

Warum Pentose- und nicht Hexose-Nucleinsäuren?

Teil V¹⁾

(Purin-Purin)-Basenpaarung in der homo-DNS-Reihe: Guanin, Isoguanin, 2,6-Diaminopurin und Xanthin

von **Katrin Groebke**²⁾, **Jürg Hunziker**²⁾, **William Fraser**³⁾, **Ling Peng**²⁾, **Ulf Diederichsen**²⁾,
Kaspar Zimmermann⁴⁾, **Armin Holzner**⁵⁾, **Christian Leumann** und **Albert Eschenmoser***

Laboratorium für Organische Chemie der Eidgenössischen Technischen Hochschule, Universitätsstrasse 16,
CH-8092 Zürich

In Memoriam Vlado Prelog

Why Pentose- and Not Hexose-Nucleic Acids? Purine-Purine Pairing in homo-DNA: Guanine, Isoguanine, 2,6-Diaminopurine, and Xanthine

This paper concludes the series of reports in this journal [1–4] on the chemistry of homo-DNA, the constitutionally simplified model system of hexopyranosyl-(6' → 4')-oligonucleotide systems studied in our laboratory as potentially natural-nucleic-acid alternatives in the context of a chemical aetiology of nucleic-acid structure. The report describes the synthesis and pairing properties of homo-DNA oligonucleotides which contain as nucleobases exclusively purines, and gives, together with part III of the series [3], a survey of what we know today about purine-purine pairing in homo-DNA. In addition, the paper discusses those aspects of the chemistry of homo-DNA which, we think, influence the way how some of the structural features of DNA (and RNA) are to be interpreted on a qualitative level.

Purine-purine pairing occurs in the homo-DNA domain in great variety. Most prominent is a novel tridentate *Watson-Crick* pair between guanine and isoguanine, as well as one between 2,6-diaminopurine and xanthine, both giving rise to very stable duplexes containing the all-purine strands in antiparallel orientation. For the guanine-isoguanine pair, constitutional assignment is based on temperature-dependent UV and CD spectroscopy of various guanine- and isoguanine-containing duplexes in comparison with duplexes known to be paired in the reverse-*Hoogsteen* mode. The assignment is supported by the characteristic changes observed in pairing behavior when guanine is replaced by 7-carbaguanine. Isoguanine and 2,6-diaminopurine also have the capability of self-pairing in the reverse-*Hoogsteen* mode, as previously observed for adenine and guanine [3]. In this type of pairing, the purine bases that contain an amino group in the 6-position (adenine, 2,6-diaminopurine, and isoguanine) behave interchangeably. *Fig. 36* provides an overall survey of the relative strength of pairing in all possible purine-purine combinations.

Watson-Crick pairing of isoguanine with guanine demands the former to participate in its 3*H*-tautomeric form; hitherto this specific tautomer had not been considered in the pairing chemistry of isoguanine. Whereas

1) Teile I–IV der Reihe 'Warum Pentose- und nicht Hexose-Nucleinsäuren?', vgl. [1–4]. Die vorliegende Arbeit gilt als 9. Mitteilung in der Reihe 'Chemie von α -Aminonitrilen' (8. Mitteilung dieser Reihe vgl. [4]). Teile der hier publizierten Ergebnisse sind von *J.H.* an der Herbstversammlung der Schweizerischen Chemischen Gesellschaft in Bern am 16.10.1991 vorgetragen sowie in mehreren von *A.E.* gehaltenen und im Druck erschienenen Vorträgen erwähnt worden; vgl. [5–8].

2) Vgl. die Promotionsarbeiten [9–12].

3) Postdoktorat ETH, 1989–91.

4) Postdoktorat ETH, 1989–92.

5) Postdoktorat ETH, 1992–93.

(cumulative) purine-purine pairing in DNA (reverse-*Hoogsteen* or *Hoogsteen*) seems to occur in triplexes and tetraplexes only, its occurrence in duplexes is a characteristic feature of homo-DNA chemistry. The occurrence of purine-purine *Watson-Crick* base pairs is probably a consequence of homo-DNA's *quasi*-linear ladder structure [1][4]. In a double helix, the distance between the two sugar C-atoms, on which a base pair is anchored, is expected to be constrained by the dimensions of the helix; in a linear duplex, however, there would be no restrictions with regard to base-pair length. Homo-DNA's ladder-like model also allows one to recognize one of the reasons why nucleic-acid duplexes prefer to pair in antiparallel, rather than parallel strand orientation: in homo-DNA duplexes, (averaged) backbone and base pair axes are strongly inclined toward one another [4]; the stronger this inclination, the higher the preference for antiparallel strand orientation is expected to be (*Fig. 16*).

In retrospect, homo-DNA turns out to be one of the first artificial oligonucleotide systems (*cf. Footnote 65*) to demonstrate in a comprehensive way that informational base pairing involving purines and pyrimidines is not a capability unique to ribofuranosyl systems. Stability and helical shape of pairing complexes are not necessary conditions of one another; it is the potential for extensive conformational cooperativity of the backbone structure with respect to the constellational demands of base pairing and base stacking that determines whether or not a given type of base-carrying backbone structure is an informational pairing system. From the viewpoint of the chemical aetiology of nucleic-acid structure, which inspired our investigations on hexopyranosyl-(6' → 4')-oligonucleotide systems in the first place, the work on homo-DNA is only an extensive model study, because homo-DNA is not to be considered a potential natural-nucleic-acid alternative. In retrospect, it seems fortunate that the model study was carried out, because without it we could hardly have comprehended the pairing behavior of the *proper* nucleic-acid alternatives which we have studied later and which will be discussed in Part VI of this series.

The *English footnotes* to *Fig. 1–49* provide an extension of this summary⁶⁾.

1. Einleitung. – Bei der Beschreibung der Paarungseigenschaften von Oligonucleotiden des homo-DNS-Typs im Teil III dieser Reihe [3] haben wir uns auf Basensequenzen der kanonischen Nucleinsäurebasen Adenin, Guanin, Thymin (bzw. Uracil) und Cytosin beschränkt. Ihre Paarungseigenschaften sind einerseits dem Verhalten analoger Sequenzen der natürlichen DNS-Reihe ähnlich, in anderer Hinsicht aber auch deutlich verschieden: gleich wie in der DNS-Reihe erfolgt in der homo-DNS die (Purin-Pyrimidin)-Paarung zu Duplexen nach dem *Watson-Crick*-Modus⁷⁾ mit antiparalleler Strangorientierung [3][4] (*Fig. 1*), solche homo-DNS-Duplexe sind aber durchwegs (gegenüber den Einzelsträngen) stabiler als entsprechende DNS-Duplexe. In auffälligem Gegensatz zur DNS bilden sich in der homo-DNS-Reihe Duplexe, deren Existenz auf (Purin-Purin)-Selbstpaarung beruht; in diesen paart Adenin mit Adenin und Guanin mit Guanin nach dem *Reverse-Hoogsteen*-Modus (*Fig. 1*). In der DNS-Reihe sind (Purin-Purin)-Selbstpaarung (unter neutralen Bedingungen) unseres Wissens bislang nur in Triplexen und (Guanin)-Tetraplexen bekannt geworden.

Wie bereits früher [1] dargelegt, kommt den Untersuchungen über homo-DNS-Oligonucleotide im Hinblick auf die in der Titelfrage zum Ausdruck gebrachte Zielsetzung nur der Rang einer Modelluntersuchung zu; denn der Zucker-Baustein der homo-DNS, die 2,3-Dideoxy-glucose, ist aus chemischer Sicht im Gegensatz zu den voll hydroxylierten (CH₂O)₆-Hexosen nicht als potentiell präbiologischer Naturstoff zu betrachten [7][14]. Die Ergebnisse unserer Untersuchungen von Oligonucleotid-Systemen

⁶⁾ Wir danken Prof. Dr. C.E. Wintner, Haverford College, Haverford, PA, USA, für seine kritische Mitarbeit bei der Abfassung der Summaries in English.

⁷⁾ Eine schwer verständliche, da völlig gegenteilig lautende, Bezugnahme auf unsere Arbeiten durch *Egholm et al.* [13] muss auf einer Rezeptionspanne beruhen.

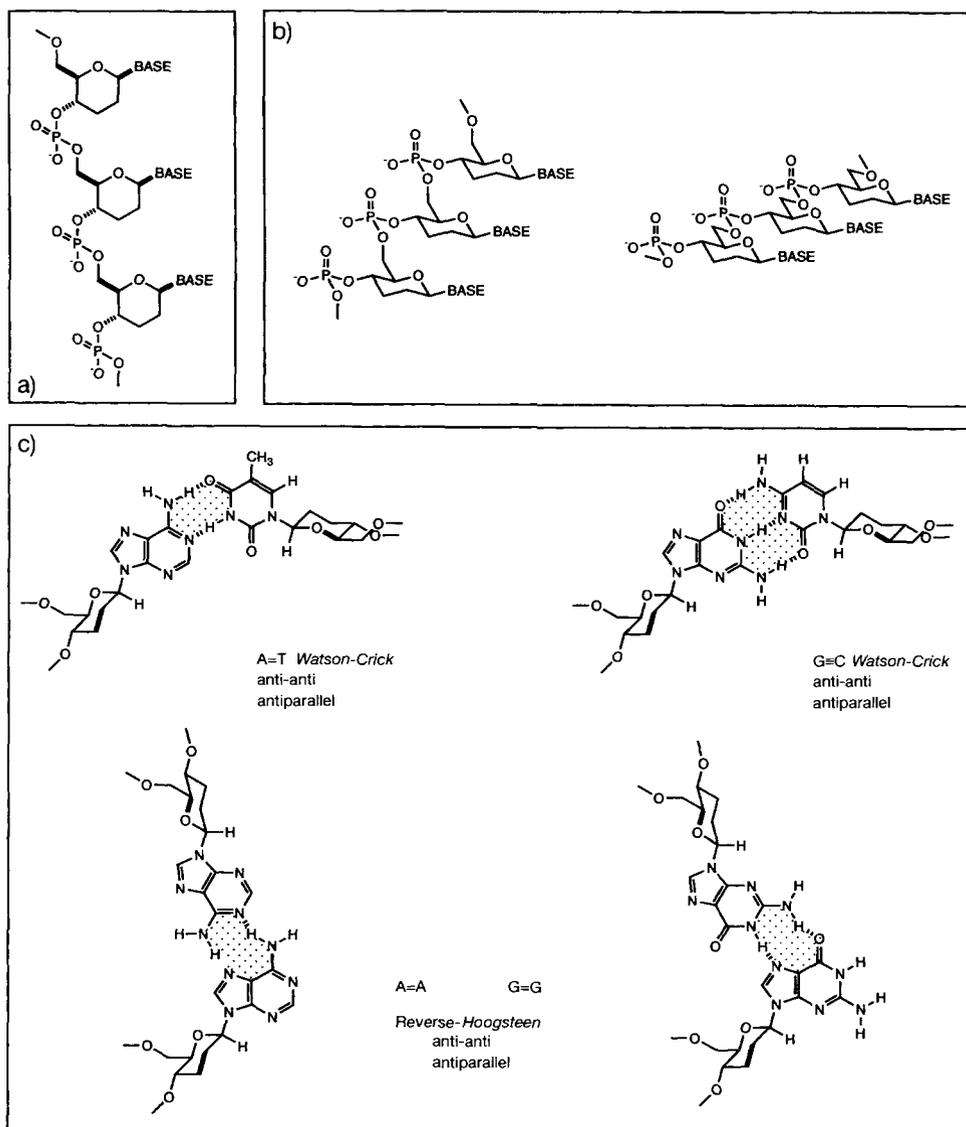


Fig. 1. *Konstitution, Konfiguration, Paarungskonformationen und Paarungskonstellationen von homo-DNS**)

*) homo-DNA: a) constitution and configuration; b) the two pairing conformations (idealized) discussed in Parts I [1] and IV [4] of this series; c) the four observed base pairings discussed in part III [3].

mit solch voll hydroxylierten, potentiell natürlichen Zucker-Bausteinen werden wir im Teil VI der Reihe zusammenfassend darstellen [15] (bis dahin vgl. [7] und [8]); die vorliegende Arbeit schliesst unseren die Teile I–V umfassenden Bericht über die Chemie der homo-DNS ab.

Das Projekt einer experimentell begründeten chemischen Aetiologie des Strukturtyps der natürlichen Nucleinsäuren darf sich in der Hinterfragung der Nucleinsäure-Struktur nicht auf den Zucker-Baustein beschränken, sondern muss sich ebenso auf die restlichen Strukturteile, d. h. auf die Nucleinsäurebasen und auf die Phosphodiester-Gruppierung, beziehen. Deshalb haben wir von Anbeginn unserer Arbeiten in Betracht gezogen, über die kanonischen Purine Adenin und Guanin hinaus alle vier Purine der Guanin-Familie in die Untersuchungen miteinzubeziehen, d. h. neben Guanin das Isoguanin, das 2,6-Diaminopurin und das Xanthin. Grund hierfür war die Auffassung, dass den drei letzteren Purinen aus chemischer Sicht das gleiche Potential für eine (vorbiologische) Selbstkonstituierung zuzuschreiben ist wie dem Guanin (Fig. 2), und dass sie darüber hinaus vor allem auch die Fähigkeit zur Bildung von zwei dreizähligen, bislang in der Natur nicht angetroffenen und in der Literatur nicht beschriebenen (Purin-Purin)-Basenpaarungen in sich tragen⁸⁾ (Fig. 3). Die Existenz solcher Paarungen würde auf die Möglichkeit hinweisen, dass Nucleinsäuren gegebenenfalls mit zwei ausschliesslich aus Purinen des Guanin-Typs bestehenden Basenpaaren hätten agieren können, wobei die vier Basen sich alle von einem einzigen (potentiell präbiotischen) Vorläufer würden herleiten lassen (vgl. Fig. 2). Es war primär die Frage nach der Existenz dieser Paarungen bei Hexopyranosyl-(6' → 4')-Oligonucleotiden, die wir im homo-DNS-Modellsystem zu prüfen beabsichtigten; dabei haben sich die Arbeiten in Richtung einer Registrierung der ganzen Palette von Paarungseigenschaften erweitert. Wir geben hier einen Überblick über die Vielfalt der in der homo-DNS-Reihe beobachteten (Purin-Purin) Watson-Crick (WC) und Reverse-Hoogsteen (RH)-Paarungen, dokumentieren dieselben einigermaßen vollständig, und fassen abschliessend zusammen, wie sich aus der Kenntnis der homo-DNS Lehren für das generelle Verständnis der strukturellen Voraussetzungen der Basenpaarung in Oligonucleotid-Systemen ergeben.

2. Synthese. – 2.1. *Herstellung der 2',3'-Dideoxy-β-D-glucopyranosyl-nucleoside des 2,6-Diaminopurins (D), Isoguanins (I), Xanthins (X) und Hypoxanthins (H).* Der in Fig. 2 angedeuteten, konstitutionellen Verwandtschaft der vier Purine der Guanin-Familie entsprechend, lassen sich die Dideoxyglucopyranosyl-nucleoside der Purin-Basen I, D und X präparativ alle aus einem gemeinsamen Ausgangsprodukt, nämlich dem 9-(2',3'-Dideoxy-β-D-glucopyranosyl)-2,6-dichlorpurin (**3**) herstellen⁹⁾. Wir haben diese Verbindung unter Anwendung des Nucleosidierungsverfahrens von Vorbrüggen und Bennua [16] gemäss Fig. 4 aus dem von uns schon früher [2] verwendeten Methyl-glycosid **1** hergestellt. Dabei zeigte es sich, dass von den vier bei einer solchen Reaktion möglichen Produktisomeren das gewünschte Isomer **3** (N(9),β) sich einfach durch direkte Kristallisation aus der (abgekühlten) Reaktionslösung isolieren lässt. Geringe Mengen der isomeren Nucleoside **3a** und **3b** wurden durch Kristallisation bzw. durch Chromatographie aus Mutterlaugen zwecks vergleichender spektroskopischer Charakterisierung isoliert; das vierte Isomer (N(7),α) wurde nicht nachgewiesen.

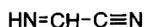
⁸⁾ Bezüglich des Basenpaares Guanin-Isoguanin hat diese Erwartung Zweifel über die in der Literatur vorgenommene Zuordnung des Tautomerie-Gleichgewichts beim Isoguanin vorausgesetzt (vgl. die Diskussion im Kap. 5).

⁹⁾ Zu der von uns verwendeten Nomenklatur für Mononucleoside der homo-DNS-Reihe vgl. Fussnote 8 in [2].

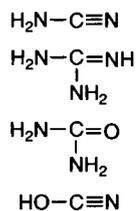
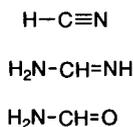
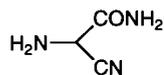
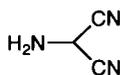
C



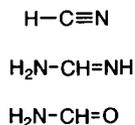
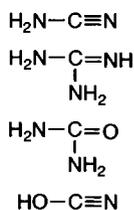
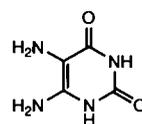
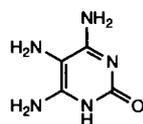
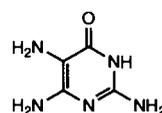
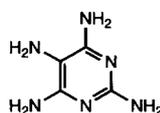
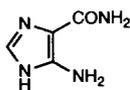
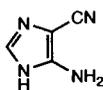
C₂



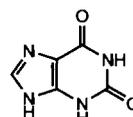
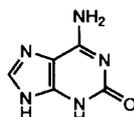
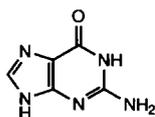
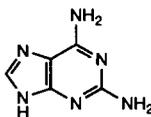
C₃



C₄



C₅



2,6-Diaminopurin

Guanin

Isoguanin

Xanthin

Fig. 2. Guanin-Familie der Purin-Basen*)

*) Constitutional relationships between HCN and cyanamide derivatives and the four purines of the guanine family. Experiments on a chemical aetiology of nucleic-acid structure must include all members of the guanine family in addition to the four canonical bases.

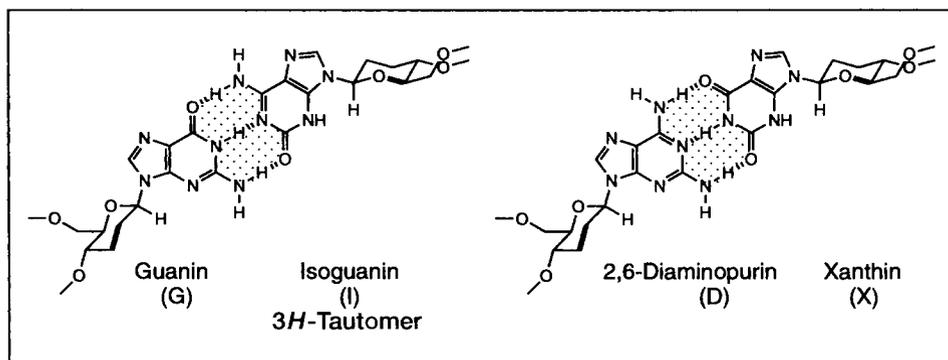


Fig. 3. (Purin-Purin)-Paarungen des Watson-Crick-Typs*)

*) The work described in this paper was stimulated by the hypothesis that two *quasi-isomorphous* purine-purine *Watson-Crick* base pairs should exist: 2,6-diaminopurine/xanthine and guanine/isoguanine. Whereas the former would be unexceptional, the latter implies the participation of a hitherto unobserved isoguanine tautomer.

Tab. 1 gibt die ^1H - und ^{13}C -NMR-spektroskopischen Daten, welche für die konstitutionelle und konfigurationelle Zuordnung der drei isolierten Nucleoside **3**, **3a** und **3b** stehen. In **3** und **3b** sitzt die Nucleosid-Base äquatorial in β -Konfiguration am Anomerie-Zentrum; dies wird vorab an der Struktur des ($\text{H}-\text{C}(1')$)-Signals erkannt, bei welchem eine der beiden Kopplungskonstanten charakteristischerweise einen Wert von über 10 Hz aufweist (diaxiale Lage zweier vicinaler Protonen), im Verein mit zwei ähnlich grossen Kopplungskonstanten für das ($\text{H}-\text{C}(4')$)-Proton, wodurch die axiale Position dieses Protons (und jene der beiden vicinalen Protonen) und somit der Konformationstyp des Pyranose-Sessels festgelegt ist. Für das Hauptisomer **3** ist die β -Konfiguration der Purin-Base am Anomerie-Zentrum zusätzlich aus dem starken NOE zwischen den Signalen für $\text{H}-\text{C}(1')$ bei 5,99 ppm und $\text{H}-\text{C}(5')$ bei 4,31 ppm erkennbar. Dass zudem in diesem Hauptisomeren der Pyranose-Zucker an der (gewünschten) Position N(9) des Purin-Rings sitzt, war vorerst aus den ^{13}C -NMR-spektroskopischen Daten der drei Isomeren und einem Vergleich mit Literaturdaten abzuleiten (vgl. Tab. 1); Gewissheit darüber erwuchs dann allerdings erst aus entsprechenden UV- und ^{13}C -NMR-spektroskopischen Vergleichen für die aus **3** hergestellten Nucleoside des Isoguanins, 2,6-Diaminopurins und Xanthins (vgl. unten).

Umwandlung des 2,6-Dichlorpurin-Kerns von **3** in die unterschiedlichen Purin-Kerne der drei ungeschützten homo-DNS-Mononucleoside des Xanthins, 2,6-Diaminopurins and Isoguanins **6**, **9** bzw. **13** ist nach den in Fig. 5 zusammengefassten Methoden durchgeführt worden. Behandlung mit PhCH_2ONa in PhCH_2OH , bzw. mit Natriumallylat in Allyl-alkohol, führt das Nucleosid **3** unter gleichzeitiger Abspaltung der im Zucker-Teil gebundenen Benzoat-Gruppen in die entsprechenden 2,6-Dialkoxypurin-nucleoside **4** bzw. **5** über. Von diesen ist das Dibenzyl-Derivat **4** zu Charakterisierungszwecken durch Hydrogenolyse in das freie Xanthin-nucleosid **6** umgewandelt worden¹⁰⁾. Bei

¹⁰⁾ Versuche, **3** direkt durch wässrige alkalische Hydrolyse in **6** umzuwandeln, führten zu Produktgemischen [9].

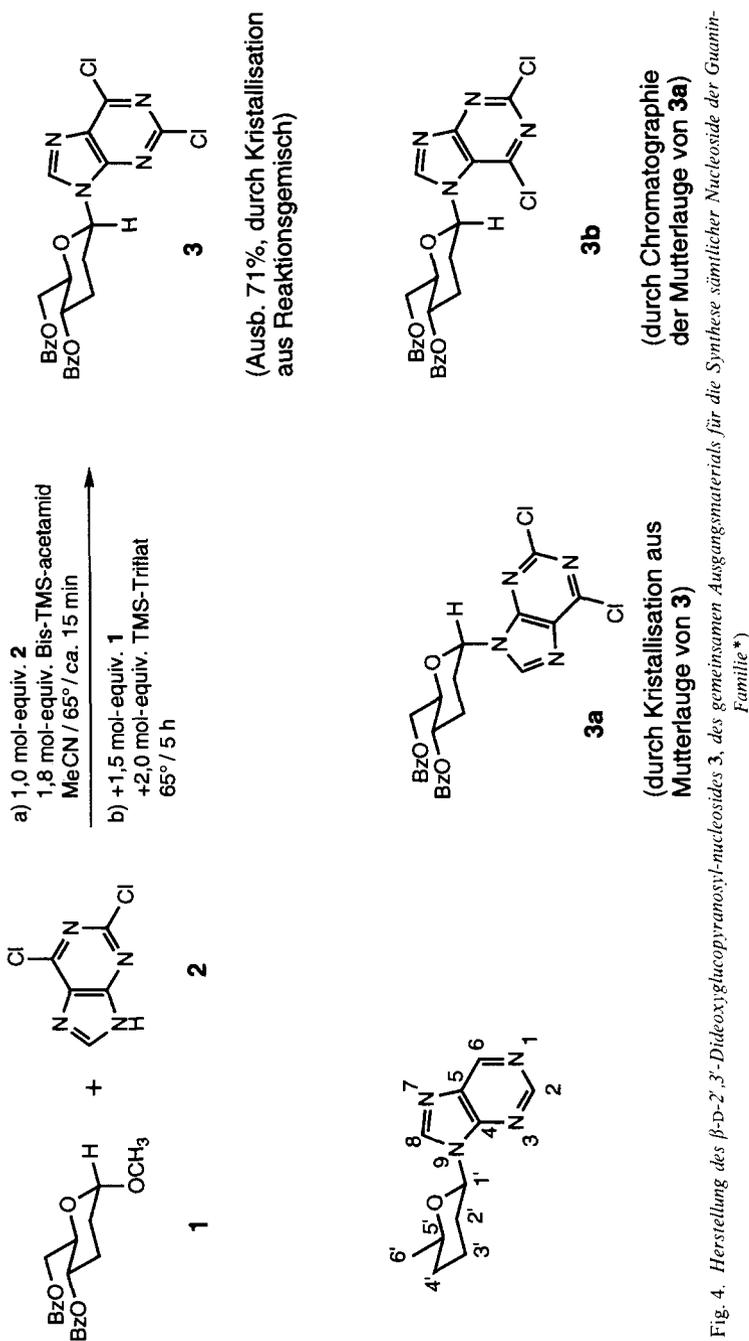


Fig. 4. Herstellung des β-D-2',3'-Dideoxyglucopyranosyl-nucleosides **3**, des gemeinsamen Ausgangsmaterials für die Synthese sämtlicher Nucleoside der Guanin-Familie*)

*) Preparation of **3**, the common intermediate for the synthesis of the β-D-2',3'-dideoxyglucopyranosyl nucleosides of the three guanine relatives. For methodology, as well as the preparation of the guanine nucleoside itself, see [2]. Table 1: ¹H- and ¹³C-NMR data of **3**, **3a** and **3b**. For nucleoside nomenclature in the homo-DNA series, see Footnote 8 in [2].

Tab. 1. $^1\text{H-NMR}$ -Chemische Verschiebungen und Kopplungskonstanten ausgewählter Zucker-H-Atome sowie ^{13}C -chemische Verschiebungen der Zucker-C-Atome und Basen-C-Atome [9] der drei isomeren Nucleosidierungsprodukte **3**, **3a** und **3b** [9], und Vergleich der ^{13}C -chemischen Verschiebungen der Basen-C-Atome der drei isomeren Nucleosidierungsprodukte **3**, **3a** und **3b** [9].

	$\delta(^1\text{H})$ [ppm]				$J(^1\text{H})$ [Hz]				$\delta(^{13}\text{C})$ [ppm]		
	3	3a	3b		3	3a	3b		3	3a	3b
H–C(5')	4,31	4,38	4,36	$J(1',2'\alpha/\beta)$	2,7	3,6	2,2	$C(2'/3')$	28,08	24,67	28,16
H–C(6') (S) oder (R)	4,47	4,51	4,45	$J(1',2'\beta/\alpha)$	10,8	7,2	10,6	$C(2'/3')$	30,43	25,19	29,92
H–C(6') (R) oder (S)	4,68	4,82	4,69	$J(3'\beta/\alpha,4')$	4,6	3,6	4,6	$C(6')$	63,32	62,19	63,38
H–C(4')	5,22	5,28	5,21	$J(3'\alpha/\beta,4') = J(4',5')$	10,2	5,4	10,1	$C(4')$	67,33	66,63	67,14
H–C(1')	5,99	6,26	6,14					$C(1'/5')$	78,14	74,42	78,14
			$J(5',6'(R/S))$	2,4	3,6	2,4	$C(1'/5')$	81,92	80,30	83,46	
			$J(5',6'(S/R))$	5,7	7,8	6,0					
			$J(6',6')$	12,3	12,0	12,0					

	$\delta(^{13}\text{C})$ [ppm]				
	3	3a	3b	Δ^b	$\Delta(\text{Lit})^c$
C(5)	130,91	131,10	121,20	–9,71	ca. –10
C(8)	143,18	144,89	146,77	+3,59	ca. +4
C(2)	152,12 ^a	152,01 ^a	153,69	ca. +1	ca. 0
C(4)	152,29 ^a	152,56 ^a	163,93	ca. +10	ca. +10
C(6)	152,22 ^a	153,60 ^a	143,79	ca. –8	ca. –6

^a) Zuordnung bezüglich C(2), C(4) und C(6) ungewiss. ^b) $\delta(\text{N}(7\beta)) - \delta(\text{N}(9\beta))$, aus den Messdaten berechnete Werte ^c) $\delta(\text{N}(7\beta)) - \delta(\text{N}(9\beta))$, aus [137] entnommene Werte für $N(7/9)$ - $(\beta\text{-D-Ribofuranosyl})$ adenine.

den Versuchen zur Herstellung des 2,6-Diaminopurin-nucleosids **9** aus **3** wurde vorerst in Anlehnung an eine in der Literatur beschriebene Methode [17] versucht, dies durch Hydrazinolyse und anschliessende *Ra*-Ni-katalysierte Hydrogenolyse zu erreichen [9]; dies gelang zwar, aber Ausbeute und Produktqualität waren unbefriedigend. Hervorragend bewährt hat sich indessen die Umsetzung von **3** mit NaN_3 in 2-Methoxyethanol bei 40°¹¹⁾ und umgehende Hydrogenolyse des relativ instabilen und deshalb nicht gereinigten Diazido-Derivats **7** zum 2,6-Diaminopurin-Derivat **8**. Die beiden am Zucker-Rest gebundenen Benzoyl-Gruppen von **3** bleiben über diese beiden Stufen erhalten; deren nachträgliche Entfernung zu **9** wurde in hoher Ausbeute durch Stehenlassen von **8** in ammoniakalischem MeOH während 4 Tagen bei Raumtemperatur erreicht. Das Isoguanin-nucleosid **13** schliesslich wurde durch eine sich aus Literaturerfahrungen [17][19][20] ergebende Abfolge von Substitutionsreaktionen aus dem Dichloropurin-nucleosid **3** hergestellt. Die hierfür entscheidende Eigenschaft des Purin-Kerns ist die höhere elektrophile Reaktivität der Position C(6) in 9-substituierten 2,6-Dichloropurinen;

¹¹⁾ In Anlehnung an analoge, in [18] beschriebene Beispiele.

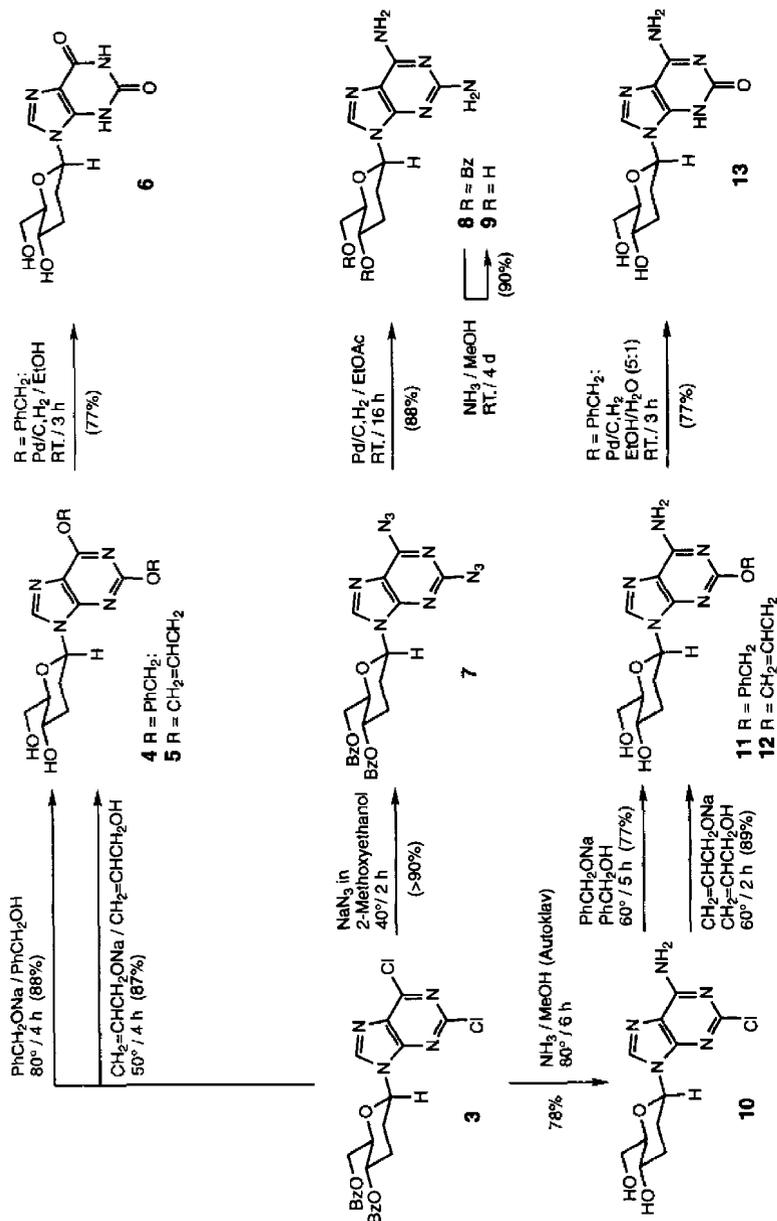


Fig. 5. Herstellung der ungeschützten Nucleoside 6, 9 und 13*.)

*) Preparation of unprotected nucleosides 6, 9, and 13 from 3. The chloro → alkoxy conversions in the xanthine and isoguanine series were originally carried out using PhCH₂OH. It then was found that allyl substituents are preferable for the automated synthesis of xanthine- and isoguanine-containing oligonucleotides. Chloro → amino conversion in the 2,6-diaminopurine series via diazide 7 is superior to hydrazinolysis followed by reduction. Diazide 7 is rather unstable and is best hydrogenolyzed to 8 without purification. Tables 2 and 3: UV and ¹³C-NMR data of 6, 9 and 13 confirm the N(9) (vs. N(7)) constitutional assignment for the sugar-base junction in 3.

sie erlaubt eine konsekutiv-selektive Substitution der beiden Cl-Substituenten [17–19]¹²⁾. Wie in der Reihe der Xanthin-Derivate **4**, **5** und **6** ist auch hier in der Isoguanin-Reihe von den beiden Alkoxy-Schutzgruppen Benzyl (Bn) und Allyl nur die erstere zwecks Bereitung des freien Nucleosids **13** (aus **11**) entfernt worden; in beiden Reihen diente Allyl als die Bn überlegene Schutzgruppe bei der (weiter unten erörterten) maschinellen Synthese der homo-DNS-Oligonucleotid-Sequenzen.

In den UV- und ¹³C-NMR-spektroskopischen Daten der freien homo-DNS-Mononucleoside **6**, **9** und **13** (vgl. Tab. 2 und 3)¹³⁾¹⁴⁾ findet sich die Bestätigung dafür, dass in diesen Verbindungen – und damit auch im Dichloropurin-Derivat **3** – der Zucker-Rest an das N-Zentrum N(9) und nicht an das Zentrum N(7) gebunden ist. Dort, wo die

Tab. 2. Vergleiche von UV-spektroskopischen Daten

	UV		
	λ_{\max} [nm] (ϵ)		
Xanthin-Derivat 6 (pK ca. 5,5, vgl. <i>Exper. Teil</i>)	233 (9370),	262 (10170)	(pH 3; 0,001N HCl)
	247 (11290),	276 (10000)	(pH 8; 0,01N K-Phosphatpuffer)
	247 (11290),	276 (10180)	(pH 13; 0,1N NaOH)
Xanthosin [21] ¹³⁾ (pK ca. 5,5 [23])	235 (8400),	263 (8950)	(pH 3; 0,001N HCl)
	248 (10200),	278 (8900)	(pH 8)
	252 (8600),	276 (9300)	(pH 14; 1N NaOH)
7-Methylxanthin [22]		268 (9330)	(pH 2)
	231 (4700),	287 (8500)	(pH 14)
2,6-Diaminopurin-Derivat 9 ¹⁴⁾	254 (9370),	279 (10350)	(pH 7; 0,01N Tris-Puffer, 0,15N NaCl, 20°)
2,6-Diamino-9-(β -D-ribofuranosyl)purin [26]	256 (9450),	280 (10000)	(pH 6,7; 0,02N Na-Phosphat, 0,15N NaCl, 25°)
2,6-Diamino-9-(β -D-glucopyranosyl)purin [27]	255 (9400),	280 (9950)	(pH 6,7; 0,05N Phosphatpuffer)
Isoguanin-Derivat 13	246 (8960),	291 (11200)	(in H ₂ O)
Isoguanosin [28]	247 (8900),	293 (11100)	(in H ₂ O)
9-Methylisoguanin [29]	247	292	
7-Methylisoguanin [29]	243	282	

¹²⁾ Die höhere Geschwindigkeit nucleophiler Substitutionen an C(6) des 2,6-Dichloropurin-Kerns ist wohlbekannt und entspricht der konstitutionellen Möglichkeit des entsprechenden (anionischen) Zwischenprodukts, sein π -Elektronenpaar über die beiden N-Zentren des purinischen Pyrimidin-Rings mit geringerer Störung der Aromatizität des purinischen Imidazol-Ring- π -Systems delocalisieren zu können, als dies beim entsprechenden Zwischenprodukt einer Substitution am C(2) der Fall ist.

¹³⁾ In saurer Lösung besitzt Xanthosin das gleiche UV-Spektrum wie 1,3,9-Trimethylxanthin (Isocoffein), was darauf hinweist, dass Xanthosin in der Diketo-Form und nicht als Enol-Form vorliegt [23]. Überdies zeigt Xanthosin im pH-Bereich 3,5–8,0 die gleiche pH-Abhängigkeit des UV-Spektrums wie 1-Methylxanthosin, dessen einziges deprotonierbares NH-Zentrum die Position N(3) ist; deshalb die Hypothese [23], dass bei der ersten Deprotonierung des Xanthosins (pK ca. 5,5 [24][25]) die NH-Gruppe in Stellung 3 des Xanthin-Kerns deprotoniert.

¹⁴⁾ pK-Wert der konjugaten *Bronstedt*-Säure des 2,6-Diaminopurin-nucleosids **9** (Fig. 5) in Methylcellosolve/H₂O 4:1 beträgt 4,3. Die zur Kontrolle im gleichen Medium bestimmten, entsprechenden pK-Werte für N(9)-(2',3'-Dideoxy- β -D-glucopyranosyl)adenin und 9-(2'-Deoxy- β -D-ribofuranosyl)adenin betragen 3,6 und 3,7 (vgl. *Exper. Teil*).

Tab. 3. *Vergleiche von ¹³C-NMR-spektroskopischen Daten*

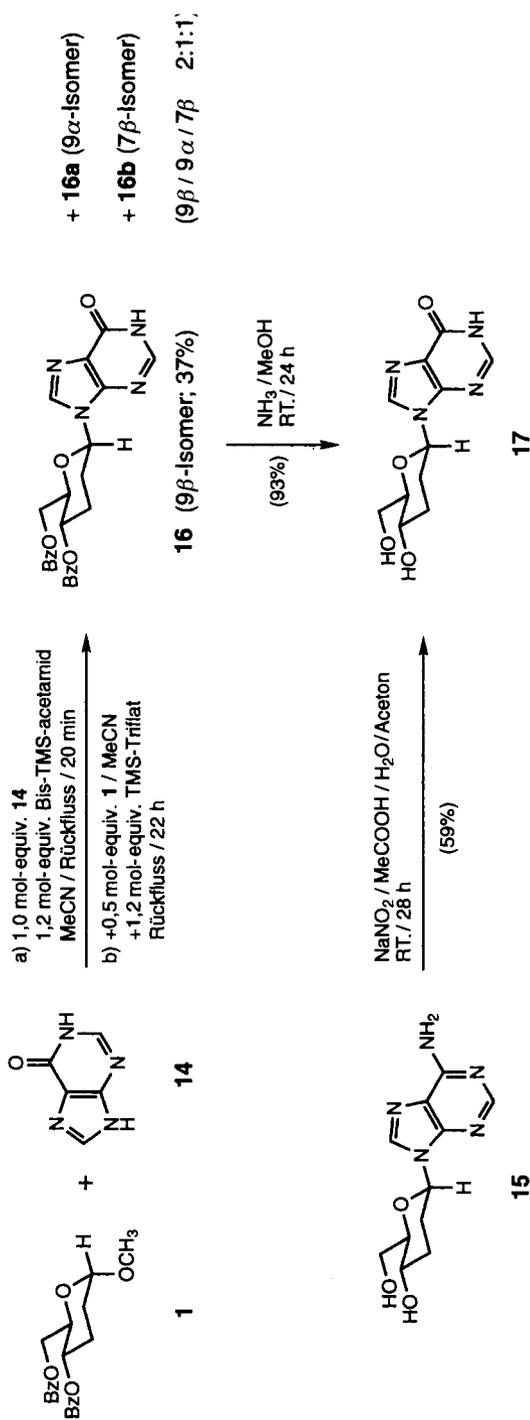
	$\delta(^{13}\text{C})$ [ppm]				
	C(2)	C(4)	C(5)	C(6)	C(8)
Xanthin-Derivat 6	151,17	140,64	115,32	157,90	133,89
Xanthosin [30]	150,4	139,3	116,2	157,7	135,6
	<u>C(2)/C(4)/C(6)</u>				
2,6-Diaminopurin-Derivat 9	151,2		112,8		135,1
	156,2				
	160,2				
2,6-Diamino-9-(β -D-ribofuranosyl)purin [32] ¹⁵⁾					
	<u>C(2)/C(4)/C(6)</u>				
Isoguanin-Derivat 13	152,4		108,9		136,6
	152,6				
	156,2				
Isoguanosin [31]	152,51		109,72		138,02
	155,72				

entsprechenden Daten der isomeren *N*(9)-(β -D-Ribofuranosyl)-mononucleoside der Literatur entnommen werden können, findet sich Übereinstimmung zwischen ihnen und den Daten der sich aus **3** ableitenden Nucleoside **6**, **9** und **13**¹⁵⁾; die Signifikanz dieser Übereinstimmung ist für die Nucleoside **6** und **13** anhand der UV-Daten entsprechender *N*(9)- und *N*(7)-alkylierter Modell-Purine belegt.

Für die Zwischenprodukte **4** und **8** ist aus ¹H-NMR-spektroskopischen Beobachtungen zu vermuten, dass sie in unpolarem Medium Konformationen des Pyranose-Rings einnehmen können, die von der Sessel-Form abweichen; so scheint das Dibenzylxypurin-Derivat **4** in CHCl₃ eine H-Brücke zwischen der OH-Gruppe an C(6') und dem N-Zentrum N(3) des Purin-Kerns (in dessen *syn*-Konformation) zu bilden, und das Dibenzoyl-Derivat **8** des 2,6-Diaminopurin-nucleosids **9** scheint in CHCl₃ (nicht aber in DMSO) eine Konformation einzunehmen, in welcher der Diaminopurin-Ring (in *anti*-Konformation) mit dem Benzol-Ring der an C(6') gebundenen *O*-Benzoyl-Gruppe in paralleler Ring-Anordnung stapeln. Die ¹H-NMR-spektroskopischen Indizien hierzu finden sich im *Exper. Teil* und eine eingehendere Diskussion darüber in [9].

Die in *Fig. 6* gegebene Formulierung und im *Exper. Teil* beschriebene Herstellung des homo-DNS-Mononucleosids **17** des Hypoxanthins ist ein im Teil III dieser Reihe [3] in Aussicht gestellter Nachtrag, nachdem dort die Darlegung der Paarungseigenschaften von Hypoxanthin-haltigen Homo-DNS-Oligonucleotiden – soweit sie für die Konstitutionszuordnung der (Adenin-Adenin)-Selbstpaarung wichtig waren – vorweggenommen wurden. *Fig. 6* orientiert über zwei der bearbeiteten Herstellungsmethoden für das

¹⁵⁾ Der für den Purin-Kern von **9** bestimmte ¹³C-NMR-Datensatz weicht deutlich von jenem ab, der in der Literatur [32] für das Ribofuranosyl-Isomere angegeben wird. Allerdings stimmen auch die in jener Literaturstelle für den Adenin-Kern des Adenosins angegebenen ¹³C-NMR-Daten nicht mit denen überein, die wir für das in seiner Struktur gesicherte *N*(9)-(2',3'-Dideoxy- β -D-glucopyranosyl)adenin (homo-Deoxyadenosin) bestimmt hatten [2].

Fig. 6. Herstellung des Nucleosids **17***)

*) Preparation of the hypoxanthine nucleoside **17**. This is an amendment to Part III of this series [3], in which the pairing properties of hypoxanthine-containing homo-DNA oligonucleotides were used to assign the constitutional mode of adenine-adenine self-pairing.

Nucleosid **17**; Beobachtungen über weitere Versuche in dieser Richtung finden sich in [12]. Die Umsetzung von **1** mit Hypoxanthin nach der bewährten *Vorbrüggenschen* Methode (vgl. oben) gab – wie immer bei Nucleosidierungen von 2,3-Dideoxyglucopyranosyl-Derivaten – das übliche Gemisch der stereoisomeren Nucleoside. Dass das chromatographisch abgetrennte und in mässiger Ausbeute isolierte Hauptprodukt **17** sowohl die β -Konfiguration des Purin-Substituenten, als auch dessen *N*(9)-Verknüpfung aufweist, ergab sich hier schon aus der Tatsache, dass die gleiche Verbindung in recht guter Ausbeute durch Nitrosierung [33][34] des früher beschriebenen und in seiner Struktur gesicherten 2',3'-Dideoxy- β -D-glucopyranosyladenins **15** [2][3] entsteht.

2.2. *Schutzgruppen*. Für den Einsatz in der maschinellen Synthese von homo-DNS-Oligonucleotiden müssen die Amino-Gruppen der Purin-Basen der hergestellten Mono-nucleoside mit geeigneten Schutzgruppen versehen sein. Für die NH_2 -Gruppe des Adenins hatte sich – wie in den Teilen II und III dieser Reihe beschrieben – die Benzoyl-Schutzgruppe bewährt. Auf Umwegen, die orientierende Untersuchungen über andere Schutzgruppen umfassten, gelangten wir zum Ergebnis, dass auch für die NH_2 -Gruppen des 2,6-Diaminopurins und Isoguanins Benzoyl (PhCO) die am besten geeignete Schutzgruppe darstellt, beim Isoguanin-Derivat im Verein mit dem Schutz des Lactam-carbonyls durch eine Allyl-iminoester-Gruppierung. Die Umwege waren deshalb beschritten worden, weil sich in der Literatur die Angabe findet [35], dass *N,N'*-diacylierte 2'-Deoxyribofuranosyl-nucleotide des 2,6-Diaminopurins beim Aufbau von DNS-Oligonucleotiden unter den Bedingungen der säurekatalysierten Detritylierung zur Depurinisierung neigen. Aus diesem Grunde, und trotz der in der Literatur ebenfalls beschriebenen Erfahrung, wonach eine entsprechende Schwierigkeit bei der Herstellung von RNS-Oligonucleotiden nicht auftritt [36], hatten wir vorerst literaturgetreu die in [35c][37] beschriebene Schutzgruppen-Strategie auf den 2,6-Diaminopurin-Nucleosid-Baustein der homo-DNS-Reihe übertragen, nämlich Schutz beider purinischer NH_2 -Gruppen als (Dibutylamino)methyliden-Derivate durch Umsetzung des freien 2,6-Diaminopurin-nucleosids **9** mit *N,N'*-Dibutylformamid-diethyl-acetal (DBFA) [37b]¹⁶). Diese Strategie haben wir zwar bis und mit der Synthese von 2,6-Diaminopurin-haltigen homo-DNS-Oligonucleotiden durchgehalten [9], wobei sich dann aber experimentelle Schwierigkeiten einstellten, welche in der Folge zur Verwendung der PhCO- anstelle der Amidin-Schutzgruppe führten¹⁷). Zu unserer Genugung zeigte es sich, dass die ursprünglichen Befürchtungen über die Labilität *N,N'*-dibenzoylierter 2,6-Diaminopurin-nucleotide bei der Festphasen-Oligonucleotids-Synthese unbegründet waren, was uns im

¹⁶) Der Struktur-Typ dieser Schutzgruppe ist aus dem in *Fig. 7* formulierten Beispiel aus der Isoguanosin-Reihe (Umsetzung **11** \rightarrow **20**) ersichtlich.

¹⁷) Unsere Erfahrungen mit der (Dibutylamino)methyliden-Schutzgruppe für die 2,6-Diaminopurin-Base in der homo-DNS-Reihe werden hier nicht im Detail beschrieben; weitergehende Angaben sind in der Dissertation von *K. Groebke* [9] zu finden (vgl. dort S. 37–41 und 282–291). Die Schwierigkeiten mit der Amidin-Schutzgruppe betrafen die beträchtliche Hydrolyse-Empfindlichkeit von *einer* (!) der beiden (Dibutylamino)methyliden-Gruppierungen bei der Herstellung der Zwischenprodukte für die Festphasen-Synthese (Kontakt mit wässriger Phase bei Aufarbeitungen musste vermieden werden), ferner die beim Oligonucleotid-Aufbau um durchschnittlich 8% geringeren Kopplungsausbeuten sowie schliesslich eine für diesen Herstellungsweg aus nicht geklärten Gründen spezifische Unbeständigkeit chromatographisch gereinigter Proben des geschützten homo-DNS-Hexamers $\text{ddGlc}[(2,6\text{-D})_6]$, einer Labilität, die bei entsprechendem, mit der PhCO-Schutzgruppen-Strategie hergestelltem Material nicht beobachtet wurde.

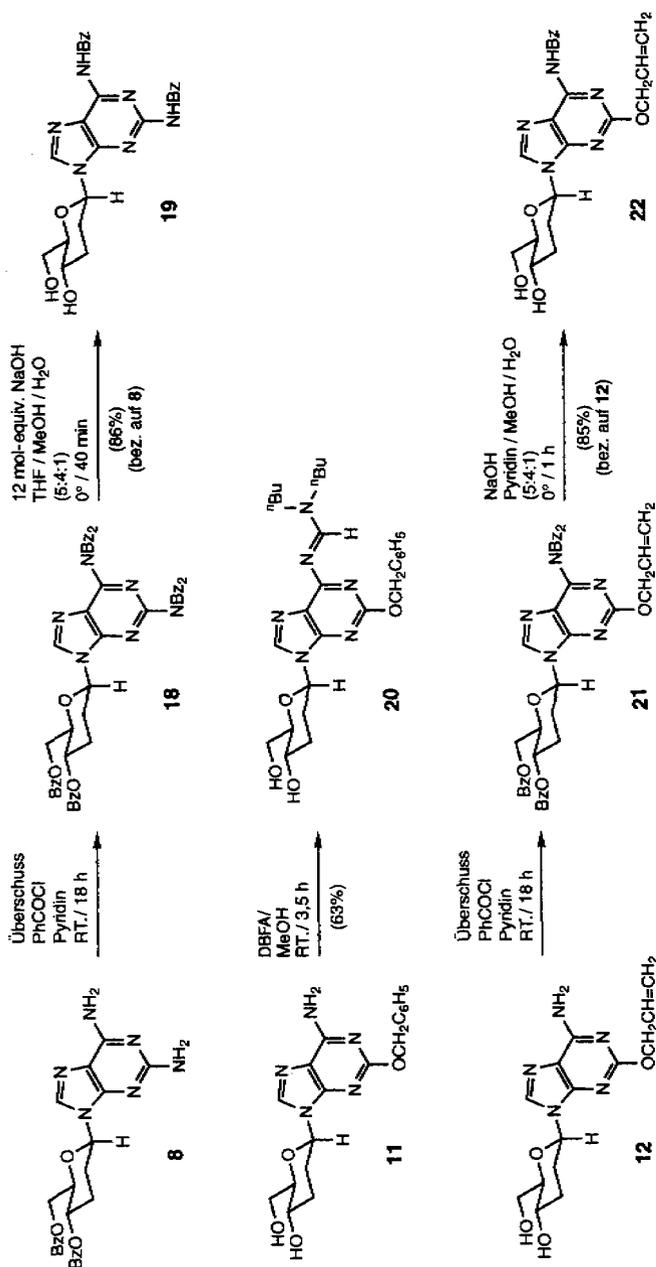


Fig. 7. Herstellung der geschützten Nucleoside 19 und 22 *)

*) Preparation of the protected 2,6-diaminopurine and isoguanine nucleosides **19** and **22** (for the protected xanthine nucleoside **5**, see Fig. 5). Extended exploratory experimentation demonstrated the difficulty of homo-DNA oligonucleotide synthesis using the (dibutylamino)methylidene protecting group for the amino groups of both 2,6-diaminopurine and isoguanine (see example in formula **20**) [9]. PhCO is the protecting group of choice for the amino function in both purines, in the case of isoguanine combined with protection of the lactam O-atom by the allyloxy group. Purine nucleoside units in oligonucleotides are found to be less sensitive toward acid-catalyzed hydrolysis in the homo-DNA series than they are in the DNA series. Introduction of one PhCO group per amino group in both the 2,6-diaminopurine and the isoguanine series is best accomplished by perbenzoylation of **8** and **12** to **18** and **21**, followed by partial hydrolysis to **19** and **22** under carefully controlled conditions.

übrigen auf eine generelle Eigenschaft von homo-DNS-Purin-nucleotiden hinwies, nämlich dass diese gegenüber säurekatalysierter Depurinisierung weniger empfindlich sind als entsprechende DNS-Nucleotide¹⁸⁾.

Die Einführung der beiden PhCO-Schutzgruppen an den beiden NH₂-Gruppen des 2,6-Diaminopurin-nucleosids **8** erfolgte präparativ am besten über das entsprechende *N,N,N',N'*-tetrabenzoylierte Zwischenprodukt **18** (vgl. *Fig. 7*), welches anschliessend ohne Reinigung unter milden alkalischen Bedingungen selektiv und in hoher Ausbeute zum *N,N'*-Dibenzoyl-nucleosid **19** umgewandelt werden konnte. Die ¹H-NMR-spektroskopischen Daten der Verbindung (vgl. *Exper. Teil*) stehen in Übereinstimmung mit den Erwartungsdaten einer den Konformationstyp des Formelbildes **19** aufweisenden Verbindung; das ¹³C-NMR-Spektrum zeigt Signal-Verbreiterungen, die auf gegenseitige Umwandlung von Konformeren der Amid-Gruppen hindeuten.

Wie beim 2,6-Diaminopurin haben wir auch für die purinische Amino-Gruppe der Isoguanin-Base zuerst die (Dibutylamino)methyliden-Schutzgruppe [37]¹⁹⁾ verwendet (vgl. **11** → **20** in *Fig. 7*), allerdings um schliesslich auch hier auf die Verwendung von PhCO als NH₂-Schutzgruppe überzuwechseln (vgl. **12** → **21**).

Aus dem Herstellungsweg für das Isoguanin-mononucleosid **9** hat sich ganz natürlich die Möglichkeit eines Schutzes der Carbonyl-Funktion des Isoguanin-Kerns für die maschinelle Oligonucleotid-Synthese ergeben, womit auch der Entscheid, diese Funktion überhaupt zu schützen, leicht fiel; wie im Teil III der Reihe [3] nachzulesen, bedurfte die Synthese guaninhaltiger homo-DNS-Oligonucleotide keines Guanin-carbonyl-Schutzes. Von den beiden Schutzgruppen Bn und Allyl, die sich natürlicherweise aus dem Weg der Herstellung des Isoguanin-Derivats aus dem 2,6-Dichlorpurin-nucleosid ergaben, haben wir beide Schutzgruppenkombinationen (Dibutylamino)methyliden/*O*-Benzyl und *N*-Benzoyl/*O*-Allyl jede für sich bis auf die Stufe der Oligonucleotide durchgezogen (vgl. unten); dabei hat sich die letztere Kombination – insbesondere wegen der zuverlässigeren Entfernung der Allyl-Schutzgruppen aus den Oligonucleotiden nach dem ausgezeichneten Verfahren von *Noyori* und Mitarbeitern [39] – als die präparativ überlegene herausgestellt²⁰⁾.

Auch bei der Bearbeitung der Schutzgruppenproblematik in der Reihe des Xanthosin-Nucleosids haben wir zuerst Umwege beschritten, ehe wir schliesslich auf den sich in jeder Hinsicht als geeignet erweisenden Schutz der Dilactam-Gruppe des Xanthin-Kerns als *O,O'*-Diallyl-imino-ether-Gruppierung (vgl. *Fig. 5*, Formel **5**) einschwenkten. In Vorversuchen hatten wir das Ziel verfolgt, in Anlehnung an Erfahrungen in der DNS-Reihe [40][41] die beiden Carbonyl-*O*-Atome des Xanthins als *O*-[2-(4-nitrophenyl)ethyl]-Derivate [42] zu schützen; ihre (in [9] näher diskutierte) Herstellung war uns aber nicht gelungen. Das in der Folge hergestellte Di-*O*-benzyl-Derivat **4** (*Fig. 5*) bereitete zwar als Ausgangskomponente für die maschinelle Festphasen-Oligonucleotid-Synthese keine Schwierigkeiten, wohl aber bei der durch Pd *heterogen* katalysierten, hydrogenolytischen

¹⁸⁾ Vermutlich ist die konformationelle Fixierung des homo-DNS-Pyranose-Rings in der Sessel-Form mit tri-equatorialer Anordnung der drei Substituenten für die relative (kinetische) Stabilität gegenüber einer Dissoziation der aktivierten (wohl an N(7) protonierten) Purin-Base mitverantwortlich.

¹⁹⁾ Für die Herstellung von Isoguanin-haltigen Oligonucleotiden in der DNS-Reihe haben *Seela et al.* [38] die Verwendung der (Dimethylamino)methyliden-Schutzgruppe beschrieben.

²⁰⁾ Ohne die Bearbeitung der Reihe mit *O*-Benzyl-Schutzgruppe wäre allerdings die im *Kap. 3.6* diskutierte Beobachtung eines überraschenden Basenpaarungstyps nicht gemacht worden.

Abspaltung der Bn-Gruppen nach Ablösung des Oligonucleotid-Derivats vom Träger; infolge geringer Produktausbeuten (die vermutlich durch ungünstige Löslichkeiten des geschützten Oligonucleotids nach Ablösung vom Träger bedingt waren) kam die Bn-Schutzgruppe für die routinemässige Herstellung von Xanthin-haltigen homo-DNS-Oligonucleotiden nicht in Betracht. Demgegenüber bewährte sich die *Noyori*-Methode der Abspaltung der Allyl-Schutzgruppen [39] bei solchen Oligonucleotiden wiederum glänzend.

2.3. *2',3'-Dideoxy-β-D-glucopyranosyl-7-carbaguanin*. In den Arbeiten über die Paarungseigenschaften von homo-DNS-Oligonucleotiden haben wir uns bei der konstitutionellen Zuordnung von Basenpaaren vorab chemischer Methoden der Konstitutionsermittlung bedienen müssen, wie wir dies im Teil III dieser Reihe [3] dargelegt haben. Zu solchen chemischen Methoden gehört unter anderem der gezielte Ersatz von gewissen N-Zentren in Nucleobasen durch C-Zentren, wobei aus dem Vergleich des Paarungsverhaltens Carba-markierter Oligonucleotid-Sequenzen relativ zu den entsprechenden Norm-Sequenzen auf den konstitutionellen Modus der Basenpaarung in den Norm-Sequenzen geschlossen werden kann. So konnten wir z. B. durch Austausch der Adenin-Basen in ddGlc(A₆) durch 7-Carbaadenin-Basen den 'chemischen Beweis' erbringen, dass die (Adenin-Adenin)-Selbstpaarung in der homo-DNS-Reihe durch einen reverse-*Hoogsteen*-Modus zustande kommt [3]. Vorab im Zusammenhang mit der Konstitutionszuordnung der in der vorliegenden Arbeit behandelten (Guanin-Isoguanin)-Paarung, dann aber auch im Hinblick auf zusätzliche Fragestellungen (vgl. *Kap. 3.9*), haben wir das 7-Carba-Analogon des homo-Deoxyguanosins zwecks gezieltem Einbau in homo-DNS-Oligonucleotide hergestellt²¹).

Da unsere früheren Erfahrungen mit homo-7-Carba-deoxyadenosin uns belehrt hatten [2][45], dass Derivate dieses Nucleosids nach dem üblichen direkten Nucleosidierungsverfahren nicht erhalten werden, sondern in Anlehnung an die Literatur [19][43] über das entsprechende 1-Chlorozucker-Derivat zu bereiten sind, haben wir die benötigten Derivate des homo-7-Carba-deoxyguanosins nach analogem Vorgehen aus dem Chlorozucker-Derivat **23** und dem 7-Carbapurin-Derivat **24** hergestellt (*Fig. 8*). Dabei bereiteten wir letzteres nach Vorschriften in [46][43] und verwendeten für die Zucker-Komponente der alkylativen Nucleosidierung **23** + **24** → **25** (*Fig. 8*) das gegenüber dem früheren Verfahren [2] vereinfachte Vorgehen der Umsetzung des α-Methyl-glycosids **1** [2] mit SOCl₂ in CH₂Cl₂ und Alkylierung der Chlorid-Komponente **23** ohne vorherige Trennung des (vermutlich vorliegenden) Epimerengemisches mit der durch (1 mol-equiv.) NaH deprotonierten 7-Carbapurin-Komponente **24** in DMF als Lösungsmittel²²). Das Alkylierungsprodukt **25** fiel nach zweimaliger chromatographischer Reinigung an Kieselgel zwar in mässiger Ausbeute, dafür aber in einheitlicher Form an; die Zuordnung seiner Struktur stützt sich auf kohärent interpretierbare ¹H- und ¹³C-NMR- sowie FAB-MS-Daten (vgl. *Exper. Teil*). Im besonderen zeigt das ¹H-NMR-Spektrum die *Dublett*-Signale zweier vicinaler Pyrrolkern-Protonen (6,45 und 7,09 ppm, *J* = 3,8 Hz) sowie das *Singlett*-Signal einer freien NH₂-Gruppe (5,04 ppm); und die Kopplungskonstanten

²¹) Über die Herstellung und Verwendung von 7-Carba-deoxyguanosin in der DNS-Reihe vgl. *Seela et al.* [43][44].

²²) Zur Frage des Reaktionsverlaufs der S_N-Reaktion vgl. Fussnote 15 in [2].

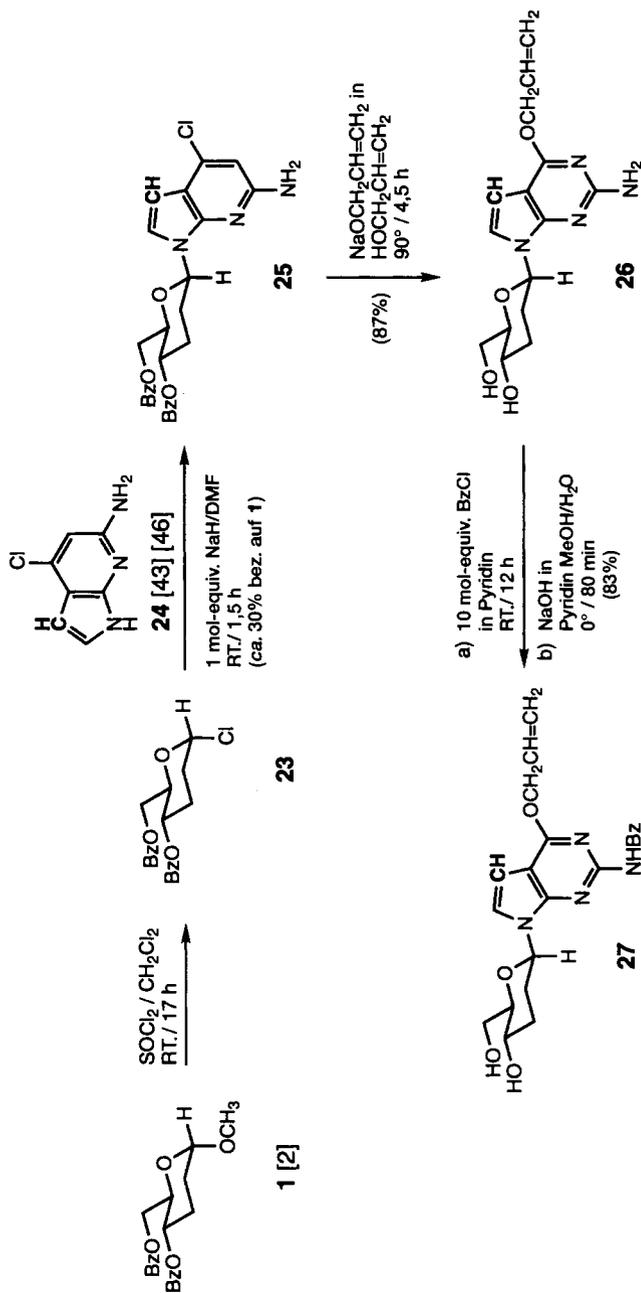


Fig. 8. Herstellung des 7-Carbaisoguanine Nucleosids **27****)

*) Preparation of the protected 7-carbaisoguanine nucleoside **27**. Alkylation of **24** followed by chromatography on silica gel gives **25** as a spectroscopically pure, constitutionally and configurationally unambiguous material. The 7-carbanucleoside is used to assign the constitutional mode of base pairing involving isoguanine bases (see Figs. 26 and 27).

(11,3 und 2,4 Hz) der Signal-Gruppe H–C(1') (5,99 ppm, *Doppeldublett*) weisen die equatoriale Lage und damit β -Konfiguration der Nucleobase nach.

Die Umwandlung des Nucleosidierungsprodukts **25** in das zwecks Einsatz in Oligonucleotid-Synthesen zweifach geschützte 7-Carboguanosin-Derivat **27** folgte dem in der Isoguanin-Reihe bewährten und dort (vgl. *Fig. 7*) näher erörterten Vorgehen.

2.4. *Phosphoramidit-Komponenten und Festphasen-Startnucleoside*. Die in *Fig. 9* zusammengefassten Reaktionsstufen der Tritylierung und anschliessenden Phosphitylierung der geschützten homo-DNS-Purin-nucleoside zu den für die Festphasen-Oligonucleotid-Synthese benötigten Phosphoramidit-Derivaten sowie die in *Fig. 10* formulierten Reaktionen zur Herstellung der Festphasen-Startnucleoside wurden alle in enger Anlehnung an die im Teil II dieser Reihe [2] beschriebenen und dort näher erörterten Methoden ausgeführt; es sind diese Verfahrensweisen, die in den Laboratorien von *Letsinger* [49], *Caruthers* [50], *Beaucage* [51] und *Köster* [52] im Zuge der Entwicklung der Festphasen-Oligonucleotid-Synthese in der DNS-Reihe erarbeitet wurden [53]. Von den in *Fig. 9* aufgeführten Reaktionssequenzen stellen **19** → **28** → **35** (2,6-Diaminopurin-Reihe), **5** → **30** → **37** (Xanthin-Reihe) und **22** → **32** → **39** (Isoguanin-Reihe) jene dar, welche sich in der Bearbeitung von Oligonucleotiden der entsprechenden Purin-Basen schliesslich am besten bewährten (und deshalb gegebenenfalls empfohlen werden könnten); die restlichen Angaben in *Fig. 9* betreffen exploratorische Versuchsreihen und Spezialfälle. Die nachfolgenden Kommentare beschränken sich auf spezifische Aspekte vorkommender Verbindungen; die Charakterisierung aller aufgeführten Verbindungen findet sich im *Exper. Teil*.

In der Reihe des *N,N'*-Dibenzoyl-2,6-diaminopurins ist das tritylierte Derivat **28** in den sonst für Trityl-Derivate dieses Typs gängigen Lösungsmitteln wie AcOEt oder AcOME und CHCl_3 schwer löslich. Deshalb musste die Phosphitylierung statt in den sonst üblichen (inerten) Lösungsmitteln vorsichtig (mit verminderter Reaktionsdauer) in Pyridin durchgeführt werden. Am Trityl-Derivat **28** wurde übrigens die relative Stabilität des *N,N'*-dibenzoylierten Nucleosids gegenüber säurekatalysierter Depurinisierung geprüft: Ein durch DC verfolgter Testversuch einer Lösung von **28** in $\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}/\text{Cl}_2\text{CHCOOH}$ (3%) bei Raumtemperatur zeigte nach 15 min noch keine, und nach 60 min nur Spuren einer Zersetzung; nach 8 h war diese indessen recht weit fortgeschritten. Da die Detritylierungsstufe bei der maschinellen Festphasen-Oligonucleotid-Synthese in der homo-DNS-Reihe lediglich 20 s pro Kopplungsschritt benötigt (vgl. unten), besteht demnach bei der Synthese von längeren Basensequenzen mit 2,6-Diaminopurin-Bausteinen bei Verwendung der PhCO-Schutzgruppe (vgl. die Diskussion in 2.2.) keine Gefahr.

In allen Versuchsreihen der *Fig. 9* wurden die Phosphoramidite jeweils nach chromatographischer Reinigung an Kieselgel²³⁾ gemäss ³¹P- und ¹³C-NMR-Spektroskopie als die erwarteten Gemische von zwei Diastereoisomeren erhalten; diese fielen nach Trocknung bei Raumtemperatur unter Vakuum durchwegs in Form eines weissen Schaums an und waren beim Aufbewahren im Tiefkühlschrank jeweils monatelang stabil (¹H-NMR).

²³⁾ Im Falle von **37** bei ca. 0°.

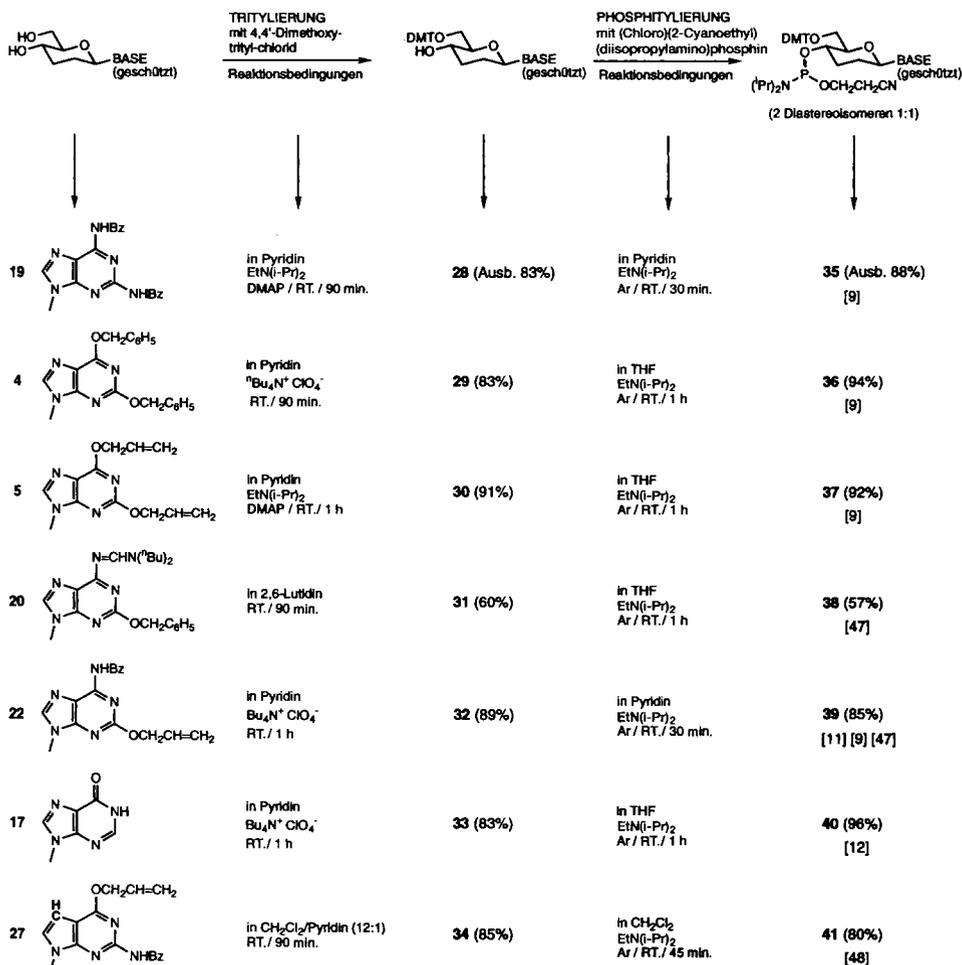


Fig. 9. Herstellung der Phosphoramidit-Derivate 35–41*)

*) Preparation of the phosphoramidite derivatives 35–41 for automated oligonucleotide synthesis. The procedures correspond to those used in [2]. A test experiment (TLC) with 28 in 3% Cl₂CHCOOH/CH₂Cl₂ at r.t. (detritylation conditions in automated oligonucleotide synthesis, reaction time 20 s) showed no decomposition after 15 min, only traces after 1 h, and substantial decomposition after 8 h. Phosphoramidites 35–41 were purified by chromatography on silica gel at 0° and characterized by ³¹P- and ¹³C-NMR spectroscopy as mixtures of the two diastereoisomers at C(1). They were obtained as colorless foams and were stable for months in the deepfreeze (¹H-NMR).

Fig. 10 orientiert über die in voller Anlehnung an unsere früheren Erfahrungen in der homo-DNS-Reihe [2] durchgeführten Herstellung der Festphasen-Startnucleoside 28b bis 34b. Als Festphase wurde ausschliesslich das Material 'long-chain alkylamine controlled pore glass' (Sigma®) verwendet (vgl. [2]). Die mittels des Detritylierungstests [53] bestimmten Beladungsdichten lagen im Bereich 30–45 µmol pro g Träger.

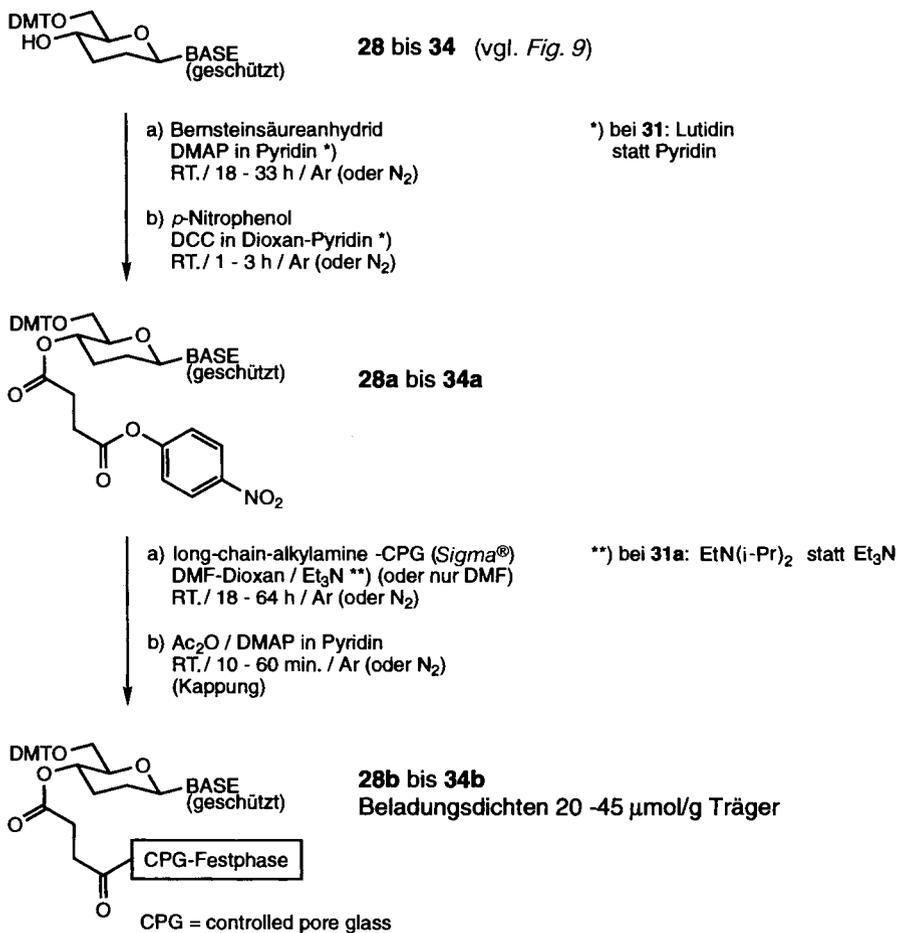


Fig. 10. Herstellung trägergebundener Mononucleotide für die Festphasensynthese von homo-DNS-Oligonucleotiden*)

*) Preparation of polymer-bound homo-DNA mononucleotides for automated oligonucleotide synthesis using known protocols [53]. For summary information on the procedures used in manual and automated homo-DNA oligonucleotide synthesis, see Scheme 9 in [2].

2.5. *All-purinische homo-DNS-Oligonucleotid-Sequenzen.* Die von uns benützten Methoden der Herstellung, Reinigung und Charakterisierung von homo-DNS-Oligonucleotiden haben wir im Teil II dieser Reihe [2] (vgl. dort S. 1433 ff) beschrieben, so dass wir hier nur solche Angaben nachtragen, die für die hier behandelten Oligonucleotid-Sequenzen spezifisch sind. Indem die 2,6-Diaminopurin, Xanthin und Isoguanin enthaltenden Sequenzen alle in der späteren Phase unseres homo-DNS-Projekts bearbeitet wurden, sind in ihrer Synthese ausschliesslich 'long-chain alkylamine-CPG' (*Sigma*®) als Festphasenträger, die 2-Cyanoethyl-Gruppe als Phosphoramidit-Schutzgruppe und der

‘Gene Assembler Plus’ der Firma *Pharmacia* als Synthese-Automat benutzt worden²⁴). Im Unterschied zu den in [2] gemachten Angaben wurden die Detritylierungsstufen in der maschinellen Synthese mit 3% Cl₂CHCOOH in ClCH₂CH₂Cl als Lösungsmittel durchgeführt, mit einer Reaktionsdauer von jeweils 20 s. Die in diesen Synthesen zur Anwendung gelangten (bzw. hier zur Mitteilung gelangenden) Basenschutzgruppen sind aus der Zusammenstellung der ersten Kolonne in *Fig. 9* ersichtlich; die wichtigen davon sind die PhCO-Schutzgruppe für die NH₂-Gruppen des 2,6-Diaminopurins und Isoguanins sowie die Allyl-Schutzgruppe für die (C=O)-Funktion des Xanthins und Isoguanins. Wie früher [2] verwendeten wir für den Guanosin-Baustein keine Schutzgruppe für die (C=O)-Funktion der Guanin-Base, dies im Gegensatz zur (C=O)-Funktion der Isoguanin-Base. Wie schon erwähnt, führte die anfänglich gewählte PhCH₂O-Gruppe auf der Stufe der Oligonucleotid-Entschützung durch heterogen-katalysierte Hydrogenolyse zu Reproduzierbarkeits-Schwierigkeiten; demgegenüber hat sich die Allyloxy-Schutzgruppe sowohl für die Isoguanin- als auch für die Xanthin-Base hervorragend bewährt, dies allerdings nach problemgerechter Modifikation der von *Noyori et al.* [39] ursprünglich für die Spaltung von Allyloxyphosphotriester- und Allyloxycarbonyl-Gruppen entwickelten Entschützungsbedingungen (höherer Säureanteil in der Reaktionslösung, bedeutend längere Reaktionsdauer; vgl. *Exper. Teil*).

Der Schutz der beiden NH₂-Gruppen des 2,6-Diaminopurins durch je eine PhCO-Gruppe benötigte gegenüber dem üblichen Entschützungsverfahren für (*N*-Benzoyl-geschützte) Adenin-, Guanin- und Cytosin-haltige homo-DNS-Oligonucleotide (vgl. [2]) – mit Ausnahme verlängerter Reaktionsdauer [9] – keine Änderungen.

Die Entfernung der Allyl-Schutzgruppen aus den Oligonucleotid-Strängen erfolgt als erste Entschützungsoperation auf dem Festphasenträger, dies im Hinblick auf die Möglichkeit, dass die Operation ‘Erhitzen in konzentrierter wässriger Ammoniak-Lösung bei 55° während Stunden’ (zwecks Ablösung der Oligonucleotid-Kette vom Träger, Freisetzung der Phosphodiester-Gruppen und Entschützung der Benzoylamino-Gruppen) an *O*-Allyl-iminolactam-Gruppierungen Nebenreaktionen durch Ammonolyse auslösen können.

Die in einer exploratorischen Versuchsreihe zum Schutz der NH₂-Gruppe der *O*-benzylierten Isoguanin-Base verwendete (Dibutylamino)methyliden-Schutzgruppe spaltet sich bei der Oligonucleotid-Entschützung gleichzeitig mit den anderen basenlabilen Schutzgruppen bei der NH₃-Behandlung ab.

Kopplungsausbeuten in maschinellen Routine-Oligonucleotid-Synthesen (in *ca.* 1- μ mol-Massstab) betragen in der Regel über 95%, z. B. bei den Synthesen von ddGlc(D₆), ddGlc(X₆) und ddGlc(I₆) von den Phosphoramid-Bausteinen **35**, **37** und **39** ausgehend lagen sie bei 96–97%, 99% und > 99%. Oligonucleotide in Mengen von > 10 μ mol für NMR-spektroskopische Untersuchungen und/oder Kristallisationsversuche wurden durch manuelle Festphasensynthese (und in einem Fall durch manuelle Flüssigphasensynthese²⁵); vgl. [2] und *Exper. Teil*) hergestellt. Nach den Operationen

²⁴) Dies mit Ausnahme eines Teils der Hypoxanthin-haltigen Oligonucleotide, die noch auf dem in der Frühphase des homo-DNS-Projekts [2] benützten ‘DNA Synthesizer’ (Mod. 380 B *Applied Biosystems*) synthetisiert wurden (vgl. [12]).

²⁵) Dieser Fall war die Herstellung von ddGlc(I-G) im 100- μ mol-Massstab. Als Startkomponente wurde das 2',3'-Dideoxy-4'-[(*tert*-Butyl)dimethylsilyl]- β -D-glucopyranosyl-N²-isobutrylguanin verwendet [11]; vgl. *Exper. Teil*.

der Entschützung und Ablösung vom Festphasenträger wurden die Oligonucleotide in der Regel zuerst einer (ein- oder, je nachdem, zweimaligen) chromatographischen Reinigung am C_8 -Umkehrphasenkieselgel-HPLC-System und – falls notwendig, (hauptsächlich bei G-haltigen Sequenzen) – anschliessend am stark basischen *MonoQ*-Ionenaustausch-System unterworfen (vgl. [2] und *Exper. Teil*). Generell wurde bis zu einer an beiden HPLC-Systemen geprüften Einheitlichkeit von über 95% gereinigt und anschliessend an C_{18} -Umkehrphasenkieselgel-Kartuschen entsalzt. Aufbewahrt wurden die Oligonucleotide als tiefgefrorene wässrige Lösungen der Triethylammonium-Salze (nach Letztreinigung am Umkehrphasen-System) bzw. als Na-Salze (nach Letztreinigung am *MonoQ*-Ionenaustausch-System). Wie bei den Oligonucleotiden der früheren Untersuchungen [2], die nur kanonische Basen enthielten, erwiesen sich die Hypoxanthin-, 2,6-Diaminopurin- und Isoguanin-haltigen homo-DNS-Oligonucleotide unter Handhabungs- und insbesondere auch Mess-Bedingungen als stabil²⁶⁾; hingegen wurde beobachtet, dass X-haltige Duplexe unter den Bedingungen der T_m -Bestimmung sich an der Grenze ihrer Stabilität befinden.

Heute ist nebst der HPLC-Analyse als obligates Routine-Kriterium die Überprüfung der Oligonucleotid-Molmasse durch Laser-Desorption-Time-of-Flight-Massenspektrometrie verfügbar (vgl. z. B. [54]); in den hier beschriebenen (zur Hauptsache im Zeitraum 1990–91 durchgeführten) Arbeiten konnten wir diese Spektroskopie nur an einer kleinen Zahl ausgewählter Oligonucleotid-Sequenzen einsetzen²⁷⁾. Im übrigen dienten die zur Ermittlung der Paarungseigenschaften routinemässig eingesetzten Untersuchungsmethoden (wellenlängen- und temperaturabhängige UV-Spektroskopie, temperaturabhängige CD-Spektroskopie und nicht-denaturierende Gel-Elektrophorese) gleichzeitig nach der Reinheitsprüfung und Charakterisierung.

Eine multidimensionale NMR-Analyse ist von den in der hier beschriebenen Projektphase hergestellten Oligonucleotiden für eine der Guanin-Isoguanin-haltigen Sequenzen im Laboratorium von K. Wüthrich²⁸⁾ versucht worden, nämlich für die zu einem Duplex ($T_m = 57^\circ$, $c = 20 \mu\text{M}$) paarende, antiparallel-selbstkomplementäre Sequenz ddGlc(I-I-G-I-G-G). Das um 50° viel besser als bei Raumtemperatur aufgelöste ^1H -NMR-Spektrum ($c = 5 \text{ mm}$, in D_2O , 50 mm Phosphatpuffer pH 7, 100 mm NaCl, 360 MHz) wies zwar durch die intranucleotidische Signal-Auflösung eindeutig das Vorliegen des korrekten C_2 -symmetrischen Konstitutionstyps nach (vgl. Figuren in [11] S. 164–168), doch war im 600-MHz-Spektrum die internucleotidische Separation der Signal-Gruppen, wie auch die Auflösung der ^{31}P -NMR-Signale bei 202 MHz, viel geringer als dies z. B. bei der entsprechenden NMR-Analyse von ddGlc(A_5-T_3) der Fall gewesen war [4] (vgl. dort Fig. 1); damit musste die Aussicht auf das Gelingen einer durchgehenden Signal-Zuordnung und damit unabhängigen und vollständigen Strukturermittlung aufgegeben werden. Im Grunde ist der auffällige Unterschied in der Auflösung von NMR-Signalen bei (Purin-Pyrimidin)- vs. (Purin-Purin)-gepaarten homo-DNS-Duplexen gar nicht so überraschend, wenn man bedenkt, dass (Purin-Purin)-Basenpaare im *Watson-Crick*-Modus (vgl. Kap. 3) im Unterschied zu alternierenden

²⁶⁾ Vgl. auch die in *Fussnote 17* angedeutete Beobachtung [9] über eine spezielle Probe von ddGlc(D_6).

²⁷⁾ Wir danken Herrn Dr. M. Schär, Ciba-Geigy AG, Basel, für die Aufnahme bzw. Vermittlung dieser Spektren.

²⁸⁾ Wir danken Herrn Dr. J. O'Conelle für diese Versuche.

(Purin-Pyrimidin)-*Watson-Crick*-Basenpaaren in sämtlichen Sequenzfolgen isomorph sind²⁹⁾. Unter Umständen kann dies auch der Grund dafür sein, dass der Duplex der Sequenz ddGlc(I-I-G-I-G-G) zwar in verschiedenen Modifikationen kristallisierte [11], von den erhaltenen Kristallen aber *Röntgen*-Beugungsmuster mit nur ungenügender Streuung (vermutlich Kristalle mit Fehlordnungen)³⁰⁾ erhalten wurden.

Fig. 11 gibt einen Gesamtüberblick über die von uns hergestellten (All-Purin)-homo-DNS-Sequenzen, in welchen die Purin-Basen Hypoxanthin (H), 2,6-Diaminopurin (D)³¹⁾, Xanthin (X) und Isoguanin (I) beteiligt sind. Die Liste der (All-Purin)-Sequenzen mit den Basen Adenin und Guanin findet sich in den Teilen II und III dieser Reihe [2][3]. Zur Nomenklatur der homo-DNS-Oligonucleotide vgl. Fussnote 8 in [2].

3. Paarungseigenschaften. – 3.1. *Vorbemerkungen.* Über die drei nicht-kanonischen Purin-Basen 2,6-Diaminopurin, Xanthin und Isoguanin existiert Literatur zu Untersuchungen, welche die Paarungseigenschaften dieser Purine im DNS- oder RNS-Strukturverband betreffen. So z. B. sind alle drei Ribofuranosyl-mononucleoside, d. h. 2-Amino-adenosin, Xanthosin und Isoguanosin als 5'-Pyrophosphate durch enzymatische Polykondensation mit geeigneten Polynucleotid-phosphorylasen in die entsprechenden (homo-basigen) RNS-Typ-Polynucleotide übergeführt worden. Sowohl Poly(xanthylsäure) [56][57] als auch Poly(isoguanylsäure) [58] bilden stark umfeldabhängige Selbstpaarungskomplexe, wobei die Konstitutionszuordnung von deren (Purin-Purin)-Paarung als ungewiss zu betrachten ist³²⁾. Poly(2-aminoadenylsäure) [59] bildet mit Poly(uridylsäure) doppel- und dreifach-strängige Paarungskomplexe, die stabiler sind als die entsprechenden Komplexe mit Poly(adenylsäure); dies war die erste von zahlreichen späteren Beobachtungen, welche für die Eigenschaft des 2,6-Diaminopurins (2-Amino-adenins) stehen, in DNS- und RNS-Duplexen das Adenin im *Watson-Crick*-Basenpaar mit Thymin (oder Uracil) funktionell ersetzen zu können [60]. Alle diese Arbeiten beziehen sich auf das zum (Adenin-Thymin(bzw. Uracil))-Paar *quasi*-isomorphe Basenpaar 2,6-Diaminopurin-Thymin; über das paarungsschemisch äquivalente, jedoch geometrisch gedehnte (Purin-Purin)-Basenpaar 2,6-Diaminopurin-Xanthin, wie auch über das Basenpaar Isoguanin-Guanin (vgl. *Fig. 3*), war unseres Wissens bisher nichts bekannt. Ein Grund hierfür mag der allen bisherigen Arbeiten unterlegten Auffassung zugrundeliegen, dass ein stellvertretendes Basenpaar im Strukturverband der DNS oder RNS die räumlichen Dimensionen eines kanonischen (Purin-Pyrimidin)-Basenpaars aufzuweisen habe, womit (Purin-Purin)-Basenpaare kaum zur Untersuchung gelangten. So ist das 1962 von *Rich* [61] erörterte und erst kürzlich von *Benner* und Mitarbeitern [62] enzymatisch in DNS eingebaute Basenpaar Isoguanin-Isocytosin, in welchem die funktionellen Gruppen

²⁹⁾ Eine vergleichsweise ebenfalls hohe internucleotidische Signal-Auflösung war unter vergleichbaren Bedingungen auch für die NMR-Spektren von ddGlc(A-A-A-A-A) (*RH*-gepaarter Duplex [2][55]) sowie ddGlc(C-G-A-A-A-A-C-G) (*RH*-gepaarter Duplex mit endständiger G/C-Basenstapelung [11]) zu beobachten.

³⁰⁾ Privatmitteilung von Dr. *Martin Egli* (ETH).

³¹⁾ ddGlc(D₆) = (Hexa-2',3'-dideoxy-β-D-glucopyranosyl)-2,6-diaminopurin-(6' → 4')-nucleotid (vgl. *Fussnote 9*).

³²⁾ Poly(xanthylsäure) bildet bei pH 5,7 und pH 8,0 unterschiedliche, durch *Faser-Röntgen*-Diffraction charakterisierte Duplexe, für welche Basenpaare des *WC*-Typs vorgeschlagen wurden [57], die dem Grundsatz widersprechen, dass bei der Postulierung von Basenpaaren mit instabilen Tautomeren, wenn schon, dann höchstens ein solches Tautomer pro Basenpaar (und nicht zwei) anzunehmen ist (bzw. sind). Wir vermuten, dass es sich in diesen Duplexen um Paarungen des *H* (oder *RH*)-Typs handeln dürfte.

	Adenin (A)	Hypoxanthin (H)	2,6-Diaminopurin (D)	Xanthin (X)	Isoguanin (I)	Guanin (G)
A	vgl. Teil III [3]					
H	— ([A - H] ₃) — ([H - A] ₃) — ([A - H] ₆) — ([A ₆ - H ₄]) — ([A ₅ - H ₅]) — ([A ₄ - H ₄]) [*] — [A-A-H-A-H-H] vgl. auch [3]	— [H ₆]		[*]) manuelle Synthese Festphase ^{**}) manuelle Synthese Flüssigphase		
D	— [D-D-A-D-A-A]	— [D-D-H-D-H-H]	— [D ₆]			
X	— [X-X-A-X-A-A]	— [X-X-H-X-H-H]	— ([X ₃ - D ₃]) — ([X - D] ₃)	— [X ₆]		
I	— [A-A-I-A-I-I] — [I-I-A-A-I-I]	— [I-I-H-I-H-H]	— [D-D-I-D-I-I]	— [X-X-I-X-I-I]	— [I ₆]	
G	vgl. Teile II [2] und III [3]	— ([G - H] ₃) — ([G - H] ₆) — ([G ₃ - H ₃]) — ([G ₄ - H ₄]) — ([G ₅ - H ₅]) — ([G ₆ - H ₄])	— [D-D-G-D-G-G]	— [X-X-G-X-G-G] — [G-G-X-G-X-X] — ([X ₃ - G ₃]) — ([X - G] ₃)	— [I-I-G-I-G-G] [*] — [G-G-I-G-I-I] — [I-I-G-G-I-I] — [G-G-I-I-G-G] — [I ₃ - G ₃] — ([I - G] ₃) — ([G - I] ₃) — ([I - G] ₂) [*] — ([G - I] ₂) [*] — [I - G] ^{**} — [G - I] ^{**} — [Bn-I ₃ - G ₃] — ([Bn-I - G] ₃)	vgl. Teile II [2] und III [3]

Fig. 11. Übersicht über die in dieser und in früheren Arbeiten [2] [3] hergestellten homo-DNS-Oligonucleotid-Sequenzen^{*})

^{*}) Survey of the all-purine homo-DNA oligonucleotide sequences synthesized and characterized in this study. For all-purine sequences which contain only adenine and/or guanine, see Part II, Table in Scheme 9 [2], and Part III, Table 1 [3]. General procedures followed in automated oligonucleotide synthesis and chromatographic purification and isolation are given in the *Exper. Part* (see also Part II [2]). *Figs. 9 and 10* provide information about protecting groups used in the synthesis. The PhCH₂- and amidine-protected **36** and **38** were used only in exploratory experiments. The guanine-containing building block (see [2]) is incorporated without lactam-carbonyl protection. Coupling yields were generally between 95 and 99% ('auto-trityl off mode'); conditions of debutylation step, see *Fig. 9*, >10 μmol amounts of oligonucleotides for spectroscopy or crystallization studies were synthesized manually. Deprotection of the allyloxy-iminoether groups by a modified version of the procedure of *Noyori* and coworkers [39] was carried out on the solid support, followed by heating in conc. aqueous ammonia solution, the latter concomitantly taking off the product from the support, the PhCO groups from the amino functions, and the cyanoethyl group from the phosphodiester junctions. Oligonucleotides containing H, D, I, and X are generally as stable as those containing only canonical bases (see [2]); however, some signs of instability under *T_m*-determining conditions have been observed in sequences containing X.

des kanonischen Basenpaars Guanin-Cytosin invertiert sind, ein (Purin-Pyrimidin)-Basenpaar; das entsprechende (Purin-Purin)-Analogon ist das Paar Isoguanin-Guanin (*Fig. 3*). Die am Ausgangspunkt unserer Arbeit gestandene Arbeitshypothese der Existenz dieses *Watson-Crick*-Basenpaars Isoguanin-Guanin war keineswegs eine offensichtliche, denn sie unterstellte die Beteiligung eines anderen Isoguanin-Tautomeren als jenem, das im (Isoguanin-Isocytosin)-Basenpaar agiert, und verlangte sogar die Beteiligung von ausgerechnet jenem Tautomeren, das sich *nicht* in der in der einschlägigen

Literatur [63][64] vorgeschlagenen Liste der stabilen Isoguanin-Tautomeren befindet. Wir werden auf diesen Punkt im Anschluss an die Darlegung der in der homo-DNS-Reihe festgestellten Paarungseigenschaften des Isoguanins zurückkommen (vgl. Kap. 4).

Die in dieser Arbeit benutzten Methoden der Charakterisierung der Paarungseigenschaften (temperaturabhängige UV- und CD-Spektroskopie, Ermittlung der thermodynamischen Daten aus der Konzentrationsabhängigkeit der Schmelztemperaturen, UV-Spektroskopische Bestimmung der Paarungsstöchiometrie, Gel-Elektrophorese unter nicht-denaturierenden Bedingungen) sind die gleichen, wie sie bereits im Teil III dieser Reihe [3] näher beschrieben wurden (vgl. dort auch einschlägige Literatur).

3.2. *Konformationelle und konstellative Kriterien für die Konstitutionszuordnung von (Purin-Purin)-Basenpaaren.* Die 'Watson-Crick- vs. Hoogsteen-Dichotomie' der (Purin-Pyrimidin)-Basenpaarung bezieht sich auf die spezifische Möglichkeit der Purin-Struktur, Paarung entweder an der Pyrimidin-Flanke des Purin-Kerns (C(6), N(1), C(3); = *Watson-Crick-Flanke*) zu betätigen, oder dies unter Einbezug der funktionellen Gruppe an C(6) des Pyrimidin-Teils zusammen mit den N-Zentrum N(7) des Imidazol-Teils (= *Hoogsteen-Flanke*) zu tun (Fig. 12). Die Bezeichnung 'Watson-Crick' geht auf den Paarungsmodus zurück, der *J. D. Watson* und *F.H.C. Crick* [65] seinerzeit zur Entdeckung der DNS-Doppelhelix geführt hatte, während 'Hoogsteen' zur Bezeichnung jenes Paarungsmodus geworden ist, den *K. Hoogsteen* [66] bei der Röntgen-Strukturanalyse eines Cokristallisats von 9-Methyladenin und 1-Methylthymine erstmals beobachtete (vgl. Kap. 6.2 und 6.3 in [67]). Beide Bezeichnungen beziehen sich ursprünglich auf (Purin-Pyrimidin)-Paarungen.

In den Fig. 13 und 14 sind die im vorliegenden Zusammenhang relevanten (Purin-Purin)-Kombinationen in abstrahierter Form zusammengestellt³³⁾ und in die sechs Typen von Paarungsmodi aufgeteilt, die sich durch unterschiedliche *Konstellation*³⁴⁾ der Paarungspartner relativ zueinander bei gegebenen konstitutionellen Paa-



Fig. 12. Die beiden Paarungsflanken des Purin-Kerns*)

*) Pairing sites for purines. Since the presentations of the diversity of constitutional modes of base pairing given in the literature refer primarily to purine-pyrimidine pairing, a survey of the diversity of pairing modes in purine-purine pairing (for the guanine family) is given in abstract form in Figs. 13 and 14.

³³⁾ Vgl. die früheren (bezüglich (Purin-Purin)-Paarungen unvollständigen) Zusammenstellungen von Paarungsmodi durch *Donohue* und *Trueblood* in [68] sowie in [67][69]. Aus sterischen Gründen in Oligonucleotiden nicht realisierbare Kombinationen sind in Fig. 14 nicht aufgeführt.

³⁴⁾ Der ursprünglich im deutschen Sprachbereich für 'Konformation' verwendete Begriff 'Konstellation' (vgl. *Ebel* [84] und *Prelog* [91]) bietet sich heute für die stereochemische Spezifikation von supramolekularen Molekül-Aggregaten an. Die 'Konstellation' hätte die räumliche Relativ-Anordnung nicht-kovalent miteinander interagierender Moleküle zu spezifizieren, bezöge sich also nicht auf die Eigenschaft eines Moleküls, oder eines Molekül-Teils (wie die Konformation), sondern auf die eines Aggregats von Molekülen. So z. B. wären die Paarungsmodi (*Watson-Crick* oder *Hoogsteen*) oder die Strang-Orientierung in Duplexen (antiparallel oder parallel) konstellative Eigenschaften. Zöge man es indessen vor, eine Verbrückung durch H-Bindungen als 'kovalente Bindung' aufzufassen, so würde die 'Konstellation' der Bindungspartner zu einer 'konstitutionellen' Eigenschaft des Basenpaares.

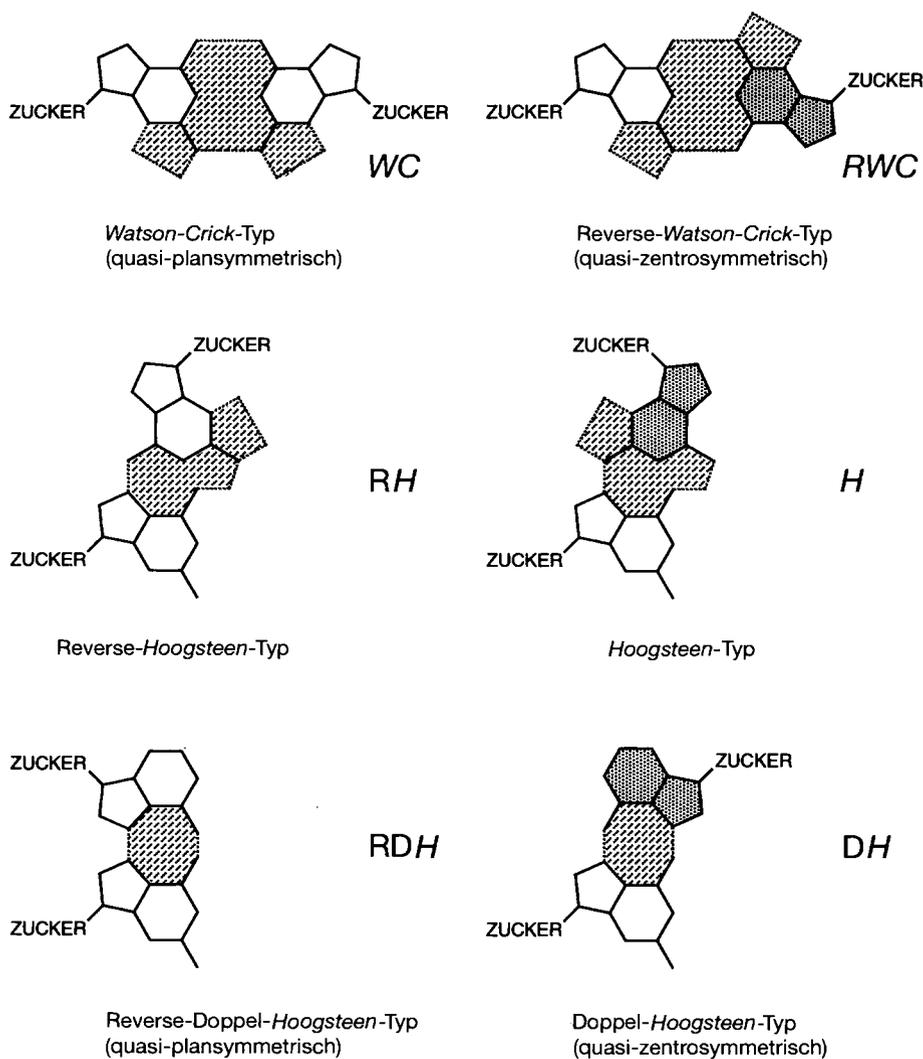


Fig. 13. Konstellative Vielfalt der (Purin-Purin)-Paarungen*)

*) The possible constellational³⁴⁾ arrangements of two purine nuclei relative to each other's pairing sites allow for six types of pairing modes. *WC*, *RH*, and *RDH* form one group, in that they can be transformed into each other by translations *within* the common plane of the base pairs. The same is true for the group *RWC*, *H* and *DH*. However, members of one group can be transformed into members of the other *only* if one base pair is subjected to 180° out-of-plane rotation. From a topological point of view, it is unfortunate that the designations, *H* and *RH* do not match *WC* and *RWC*³⁵⁾.

³⁵⁾ Aus dieser Gegenüberstellung der Paarungstypen in Fig. 13 wird evident, dass die durch Gebrauch eingebürgerten [67] (und deshalb wohl kaum mehr zu revidierenden) Bezeichnungen *Watson-Crick (WC)* und *Reverse-Watson-Crick (RWC)* sowie *Hoogsteen (H)* und *Reverse-Hoogsteen (RH)* bezüglich der Voraussetzungen ihrer gegenseitigen Überführung leider nicht kohärent sind. Es wäre logischer, wenn die Bezeichnungen *H* (*Hoogsteen*-Paarung) und *RH* (*Reverse-Hoogsteen*-Paarung) invers verwendet werden könnten.

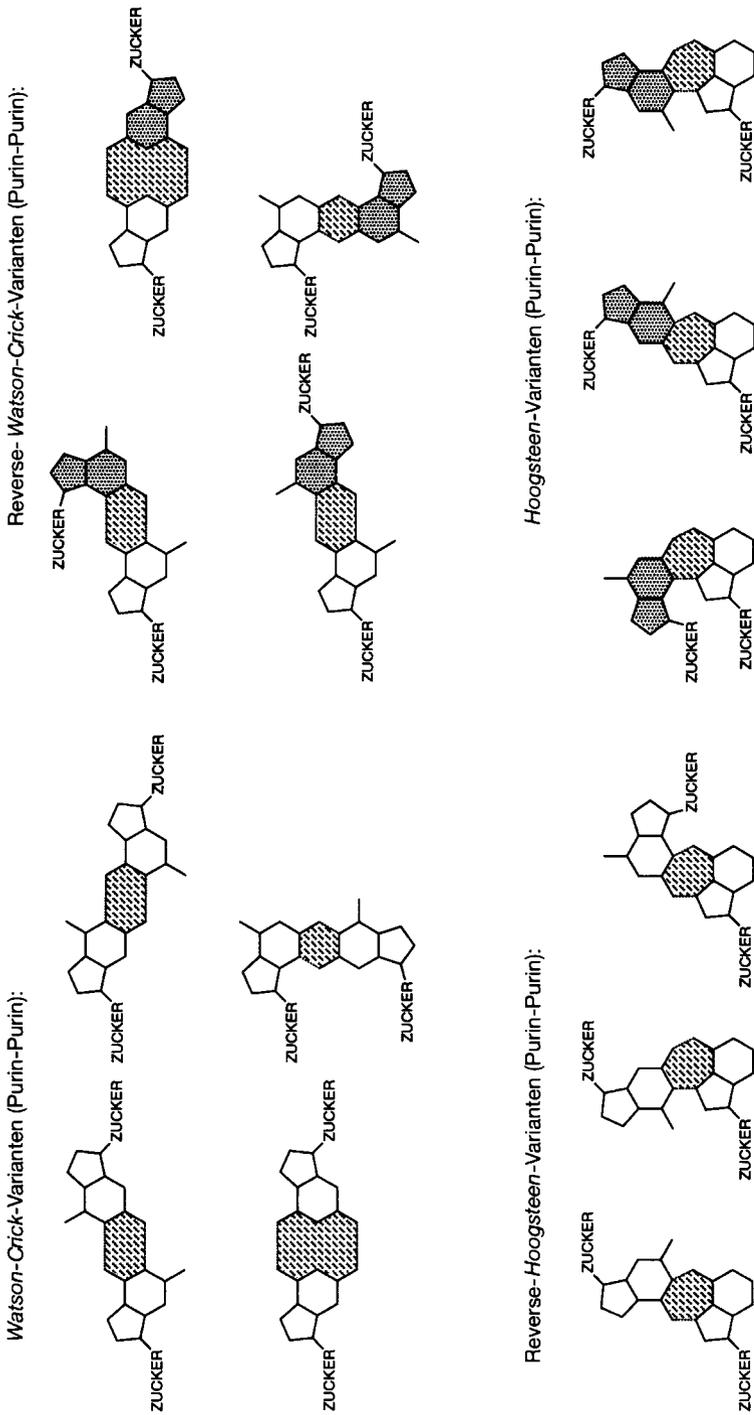


Fig. 14. (Purin-Purin)-Paarungsvarianten*)

*) Several specific bidentate or tridentate variations are possible for WC and H (but not DH) purine-purine pairing, depending on the distribution of functionalities at the pairing sites.

rungsflanken ergeben: *Watson-Crick (WC)*, *Reverse-Watson-Crick (RWC)*, *Hoogsteen (H)*, *Reverse-Hoogsteen (RH)*, und *Doppel-Hoogsteen (DH)* bzw. *Reverse-Doppel-Hoogsteen (RDH)*. Diese konstellative bzw. konstitutionelle Vielfalt³⁴ rührt davon her, dass in Purin-Nucleotiden die Achsen der nucleosidischen Bindungen C(1')–N(1) (bzw. C(1')–N(9) bei Pyrimidin-Nucleotiden) nicht mit Basenpaarungs-Achsen übereinstimmen und deshalb die Konstellation der Paarungspartner bezüglich 180°-Drehung um diese Bindungsachse nicht invariant ist. Die Typen *WC*, *RH* und *RDH* sind durch Translationen *innerhalb* der gemeinsamen Basenpaar-Ebene ineinander überführbar, während die Typen *RWC*, *H* und *DH* dies nach Umklappung jeweils einer der beiden Paarungspartner um 180° entlang der nucleosidischen Bindungsachse (C(1')–N(9)) sind³⁵. Zwischen dem Paarungsmodus, der Strangorientierung und dem Konformationstyp um die nucleosidische Bindung (C(1')–N(9)) (Fig. 15) bestehen zwingende topologische Zusammenhänge (Tab. 4). Diesen kommt für eine indirekte Zuordnung des Konstitutionstyps von Basenpaaren entscheidende Bedeutung zu, da sowohl die Strang-Orientierung (durch Paarungstests zwischen antiparalleler- vs. parallel-komplementären Basensequenzen), als auch der Konformationstyp um die nucleosidische Bindung (¹H-NMR-NOE-Korrelation zwischen H–C(1') des Zuckerbausteins und H–C(8) des Purin-Bausteins) experimentell direkt zugänglich sind. Im *WC*-Modus sind Duplex-Stränge antiparallel angeordnet, sofern die Basenkonformationen beidseitig durchwegs *anti* (= *anti/anti*) oder beidseitig durchwegs *syn* (= *syn/syn*) sind. Dies gilt für homochirale Stränge mit gleichem Chiralitätssinn. *WC*-Paarung bei paralleler Strang-Anordnung verlangt Anpassung der Lage der funktionellen Gruppen in der Paarungs-Schnittstelle durch *syn*-Konformation der Basen in einem der Stränge. Da die Paarungstypen *RH* und *RDH* durch einfache Translationen *innerhalb* der Paarungsebene (Rotation um Achsen senkrecht zur Basenpaarebene) vom *WC*-Modus aus zugänglich sind, gelten für diese die gleichen Relationen. Aus den drei Typen *WC*, *RH* und *RDH* gehen durch 180°-Drehung der Basenpartner in jeweils einem der beiden Stränge um eine in der Basenpaarebene liegende Achse bei gleichzeitiger Umkehr der Strang-Orientierung die Paarungsmodi *RWC*, *H* und *DH* hervor (vgl. hierzu Fussnote 35); dementsprechend sind in ihnen alle Relationen relativ zur ersten Dreiergruppe *invers*. Bei homochiralen Strängen mit entgegengesetztem Chiralitätssinn sind die Relationen umgekehrt [82].

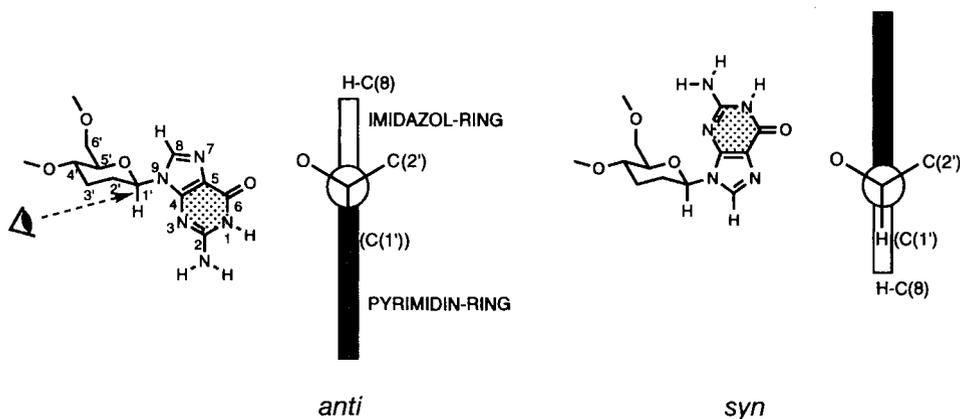


Fig. 15. Basenkonformation in Purin-Nucleosiden (idealisiert)*)

*) Strict relationships exist among pairing mode, base conformation, and strand orientation in oligonucleotide duplexes (see Table 4). These are directly relevant to the assignment of pairing mode, since experimental data on nucleobase conformation and strand orientation (Fig. 16) are readily accessible.

Ob Oligonucleotid-Stränge nicht nur in antiparalleler, sondern auch in paralleler Strang-Orientierung paaren können, hängt in ausschlaggebender Weise von der *Neigung* zwischen Strang-Achse und Basenpaar-Achse ab (Fig. 16). Paarung mit *paralleler* Strang-Anordnung sollte um so schwieriger sein, je stärker (approximierte) Strang-Achsen und Basenpaar-Achsen zueinander geneigt sind, da dann (bei äquidistanter Anordnung der beiden Stränge) die Ebenen gegenüberliegender Basen zunehmend von der Coplanarität abweichen. Lägen diese Achsen orthogonal zueinander, so wären antiparallele und parallele Strang-Orientierung bezüglich der Coplanarität der

Tab. 4. Zusammenhang zwischen Paarungsmodus, Konformationstyp und nucleosidische Bindung und Strang-Orientierung

Paarungsmodus		Konformationstyp um nucleosidische Bindung	Strang-Orientierung homochiraler Stränge gleichen Chiralitätssinns
<i>Watson-Crick</i>	<i>WC</i>	<i>anti/anti</i> oder <i>syn/syn</i> <i>anti/syn</i> oder <i>syn/anti</i>	antiparallel parallel
<i>Reverse-Watson-Crick</i>	<i>RWC</i>	<i>anti/anti</i> oder <i>syn/syn</i> <i>anti/syn</i> oder <i>syn/anti</i>	parallel antiparallel
<i>Hoogsteen</i>	<i>H</i>	<i>anti/anti</i> oder <i>syn/syn</i> <i>anti/syn</i> oder <i>syn/anti</i>	parallel antiparallel
<i>Reverse-Hoogsteen</i>	<i>RH</i>	<i>anti/anti</i> oder <i>syn/syn</i> <i>anti/syn</i> oder <i>syn/anti</i>	antiparallel parallel
<i>Doppel-Hoogsteen</i>	<i>DH</i>	<i>anti/anti</i> oder <i>syn/syn</i> <i>anti/syn</i> oder <i>syn/anti</i>	parallel antiparallel
<i>Reverse-Doppel-Hoogsteen</i>	<i>RDH</i>	<i>anti/anti</i> oder <i>syn/syn</i> <i>anti/syn</i> oder <i>syn/anti</i>	antiparallel parallel

Basenebenen gleichwertig (im Unterschied zur Paarung mit antiparalleler Strang-Orientierung hätte bei Paarung mit paralleler Strang-Orientierung – gleicher Chiralitätssinn der homochiralen Stränge vorausgesetzt – die Konformation der Stränge und insbesondere auch die Konformation um die nucleosidischen Bindungen in den beiden Strängen unterschiedlich zu sein). Eine generelle Voraussetzung für hohe Strang-Orientierungs-Selektivität von nucleotidischen Paarungssystemen ist eine hohe Neigung zwischen den beiden Achsen³⁶⁾. Diese Voraussetzung dürfte nach allen bisher verfügbaren (konformationsanalytischen [1][3] und NMR-spektroskopischen [4]) Kriterien für die homo-DNS zutreffen, womit die Übertragung der an spezifischen Basensequenzen experimentell nachgewiesenen Bevorzugung der antiparallelen Strang-Orientierung [3] auf die Konstitutionszuordnung der bisher unbekanntenen (Purin-Purin)-Basenpaare der homo-DNS-Reihe wohlbegründet erscheint.

3.3. *Selbst- und Mischpaarung von 2,6-Diaminopurin und Isoguanin im Vergleich zu Adenin.* Nachdem wir früher beobachtet hatten, dass Selbstpaarung homopurinischer Basensequenzen des Adenins und Guanins (nicht aber Hypoxanthins) für die homo-DNS-Reihe charakteristisch ist, und dass diese Selbstpaarung zu Duplexen nach dem *RH*-Modus (Fig. 1) erfolgt [3], war zu vermuten, dass homopurinische Basensequenzen des 2,6-Diaminopurins und Isoguanins, nicht aber des Xanthins, sich analog verhalten würden, und dass darüberhinaus erstere sowohl unter sich, als auch mit entsprechenden homopurinischen Sequenzen des Adenins, Mischpaarungen eingehen würden. Es ist in diesem Zusammenhang sinnvoll, zwischen Purin-Basen des Adenin-Typs (Adenin, Isoguanin, 2,6-Diaminopurin) und jenen des Hypoxanthin-Typs (Hypoxanthin, Guanin,

³⁶⁾ Bei der helikalen Anordnung der Stränge in der DNS und RNS entspräche diese Neigung einer solchen zwischen Basenpaarachse und Strangachsen-Tangente; über die Definition dieses Parameters für die Struktur der natürlichen Nucleinsäuren und über dessen Bedeutung für die Interpretation von Unterschieden in den Eigenschaften von DNS- und RNS-Oligonucleotiden, die mit der unterschiedlichen (Strang/Basenpaar)-Neigung dieser beiden Nucleinsäure-Typen zusammenhängen, vgl. eine geplante Publikation in Zusammenarbeit mit *M. Egli* und *P. Lubini* [70].

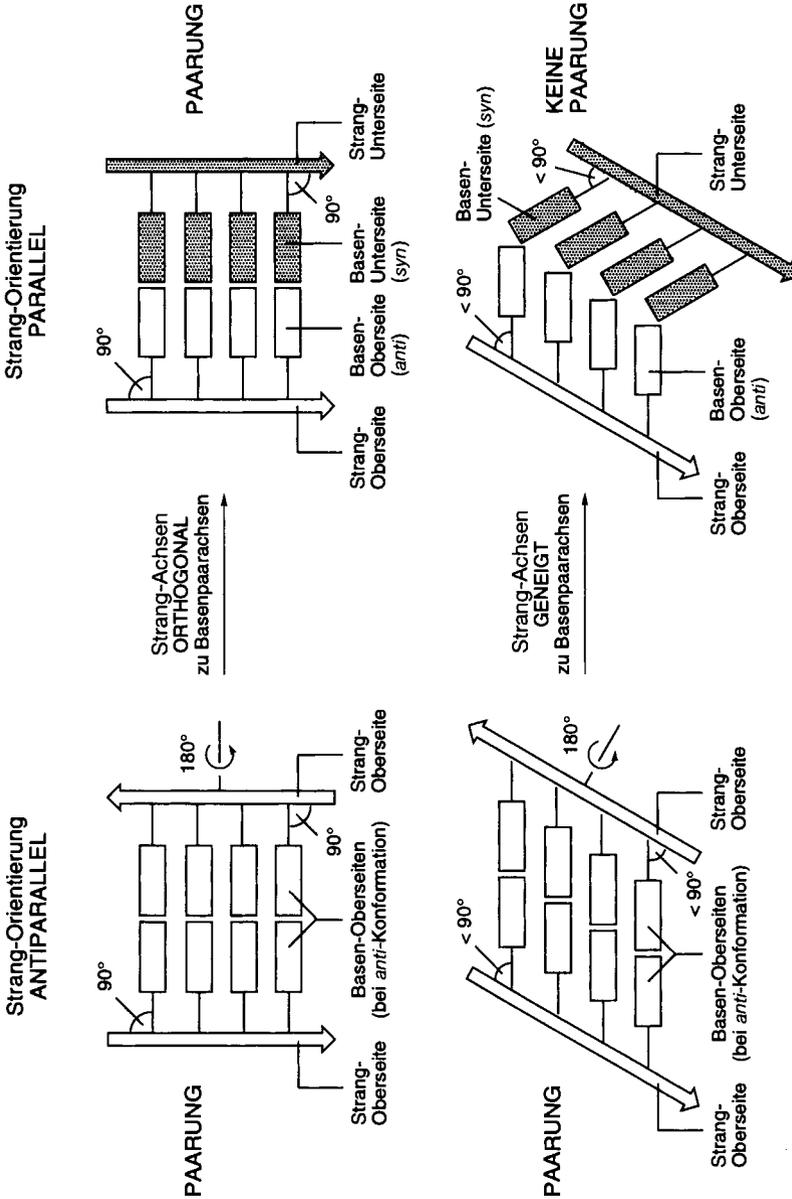


Fig. 16. Stilisierter Hinweis auf den Zusammenhang zwischen (Rückgrat/Basenpaar)-Neigung und Strang-Orientierung in Duplexen von Oligonucleotid-Systemen*)

*) Strong preference for pairing in antiparallel strand orientation is widespread among natural oligonucleotide pairing systems. This also is the case for homo-DNA. The literature on the chemistry of DNA and RNA is remarkably silent about why this should be so. One reason for the preference of antiparallel strand orientation in oligonucleotide pairing is the conformational non-identity of the two strands when pairing has to occur with strands parallel; another reason is revealed by analysis of homo-DNA's ladder structure: the inclination between the axis of the (quasi-linear) backbone and the (averaged) pairing axis of the base pairs [1] [3] [4]. In duplexes with strongly inclined axes, the conformational demands of base pairing and base stacking exclude parallel strand orientation. [3]. Although less obvious than in quasi-linear systems, this relationship also must hold in helical systems, where the backbone axis is to be approximated as tangential at the base pair-sugar junctions [70]. Note, however, that the inclination between the axes can be turned to some extent by changing nucleoside torsion angles.

Xanthin) zu unterscheiden (Fig. 17), weil den Vertretern der ersten Gruppe die Möglichkeit der *RH*-Paarung nach dem Vorbild des Adenins (Fig. 1) zukommt, nicht aber den Vertretern der zweiten Gruppe eine solche nach dem Vorbild des Guanins, solange man nicht für das Xanthin die Beteiligung eines der möglichen Tautomeren in Betracht zieht.

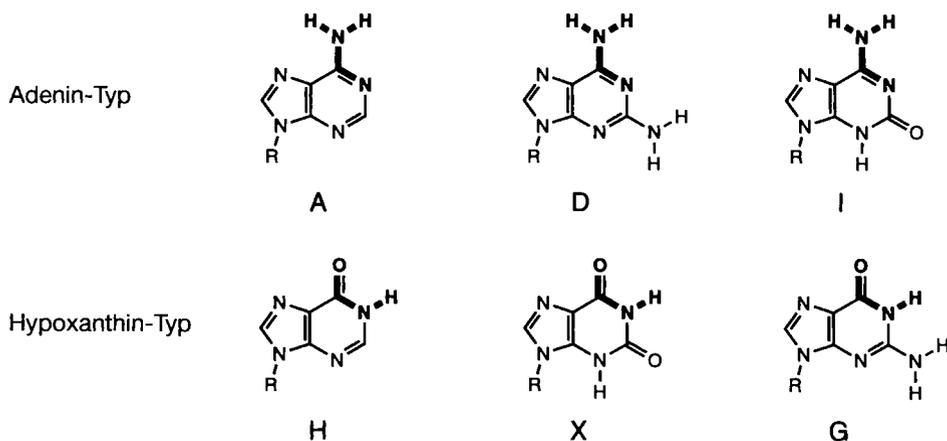


Fig. 17. Differenzierung der Purine in solche des Adenin-Typs und in solche des Hypoxanthin-Typs*)

*) For analyzing the diversity of purine-purine pairings, it is helpful to divide the purines into two types: the adenine type, including 2,6-diaminopurine and isoguanine; and the hypoxanthine type, including xanthine and guanine (note bold-faced parts of formulas and the implication for their equivalence in *H* pairing).

Unter den früher bei der Charakterisierung der Adenin-Selbstpaarung verwendeten Standard-Bedingungen [3] zeigen sowohl ddGlc(D₆), als auch ddGlc(I₆) eine Selbstpaarung, die in ihrer Stabilität mit der von ddGlc(A₆) vergleichbar ist (Fig. 18, a und Fig. 19, a–c). Dass die Basen der Adenin-Gruppe bezüglich ihrer Paarungsfähigkeit gegenseitig austauschbar sind, zeigen die Selbstpaarungs-Eigenschaften der drei Sequenzen des Typs ddGlc(BBBBBB³⁷) (Fig. 18, b und c, und Fig. 19, d–f). Alle drei (B=D und B=A; B=D und B=I; B=A und B=I) verhalten sich als antiparallel-selbstkomplementäre Basensequenzen, da sie Duplexe ungefähr gleicher Stabilität bilden wie die entsprechenden drei homopurinischen Hexameren (*T_m*-Werte um 40° bei *c* ≈ 20 μM). Die Möglichkeit, dass die beobachtete Paarung dieser gemischt-purinischen Hexameren durch homopurinische Selbstpaarung mit paralleler Strang-Orientierung zustande kommen würde, schliessen wir aus, denn wir hatten früher nachgewiesen [3], dass die (Adenin-Adenin)-Selbstpaarung antiparallele Strang-Anordnung befolgt.

Für den Fall der Selbstpaarung von ddGlc(I₆) haben wir explizite die Intermolekularität der beobachteten Komplexierung durch Registrierung der Abhängigkeit der Schmelztemperatur von der Strang-Konzentration nachgewiesen und hieraus nach bekannter Vorschrift [71][3] die thermodynamischen Daten bestimmt. Diese sind mit der

³⁷) Infolge der Selbstpaarung der homopurinischen Hexameren kann die Mischpaarung nicht einfach an binären Gemischen dieser Hexameren geprüft werden.

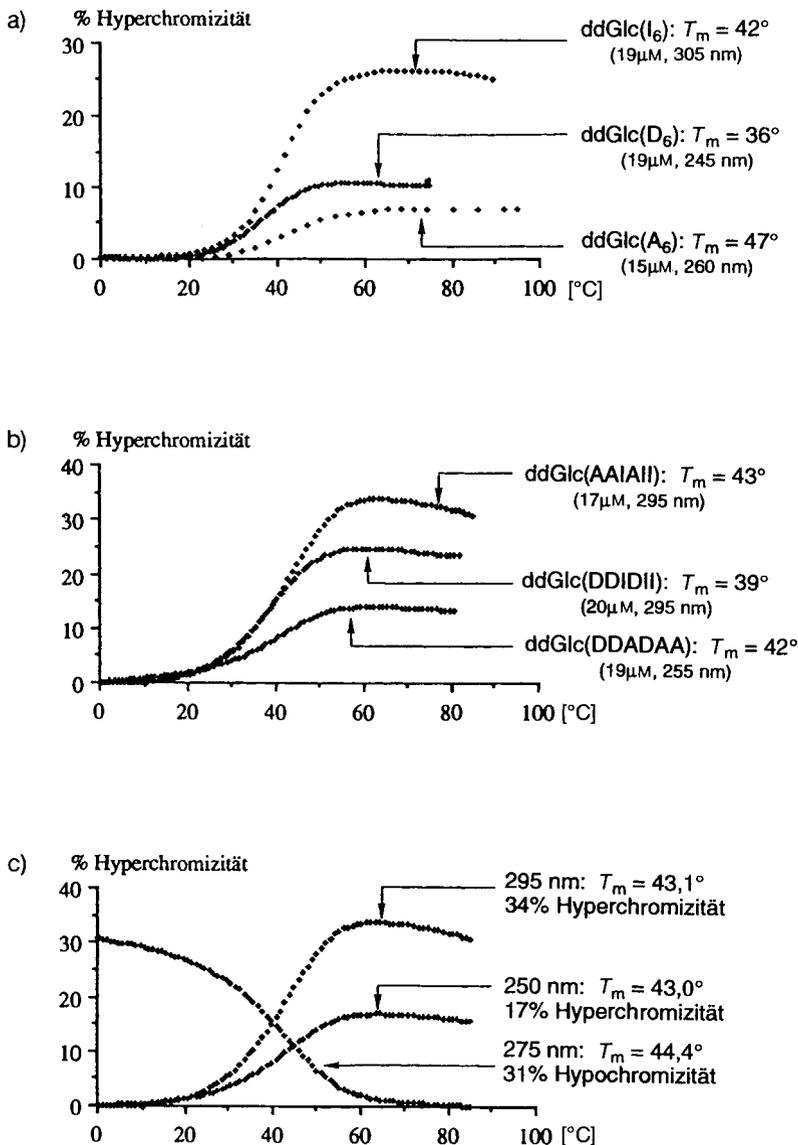


Fig. 18. a) Schmelzkurven von ddGlc(I₆), ddGlc(D₆) und ddGlc(A₆); b) Schmelzkurven der Hexanucleotide ddGlc(A-A-I-A-I-I), ddGlc(D-D-I-D-I-I) und ddGlc(D-D-A-D-A-A); c) Schmelzkurven von ddGlc(A-A-I-A-I-I) bei drei verschiedenen Wellenlängen. Alle Messungen 0,15M NaCl, 0,01M Tris · HCl, pH 7,0, D = 2,6-Diaminopurin*).

*) UV-Spectroscopic characterization of self-pairing and cross-pairing of ddGlc-hexamers containing purines of the adenine type. a) ddGlc(I₆) and ddGlc(D₆) pair with themselves, as previously observed for ddGlc(A₆) [3]. b) Hexamers with mixed purine sequences undergo (antiparallel) cross-pairing of A with I, of D with I, and of D with A. c) T_m values of ddGlc(A-A-I-A-I-I) measured at different UV wavelengths. The similarity of all T_m values observed in a and b under similar conditions corroborates the expectation that self-pairing and cross-pairing between bases of the adenine type occur by the same pairing mode (see also Table 5). For the method of UV spectroscopic T_m determination, see [3].

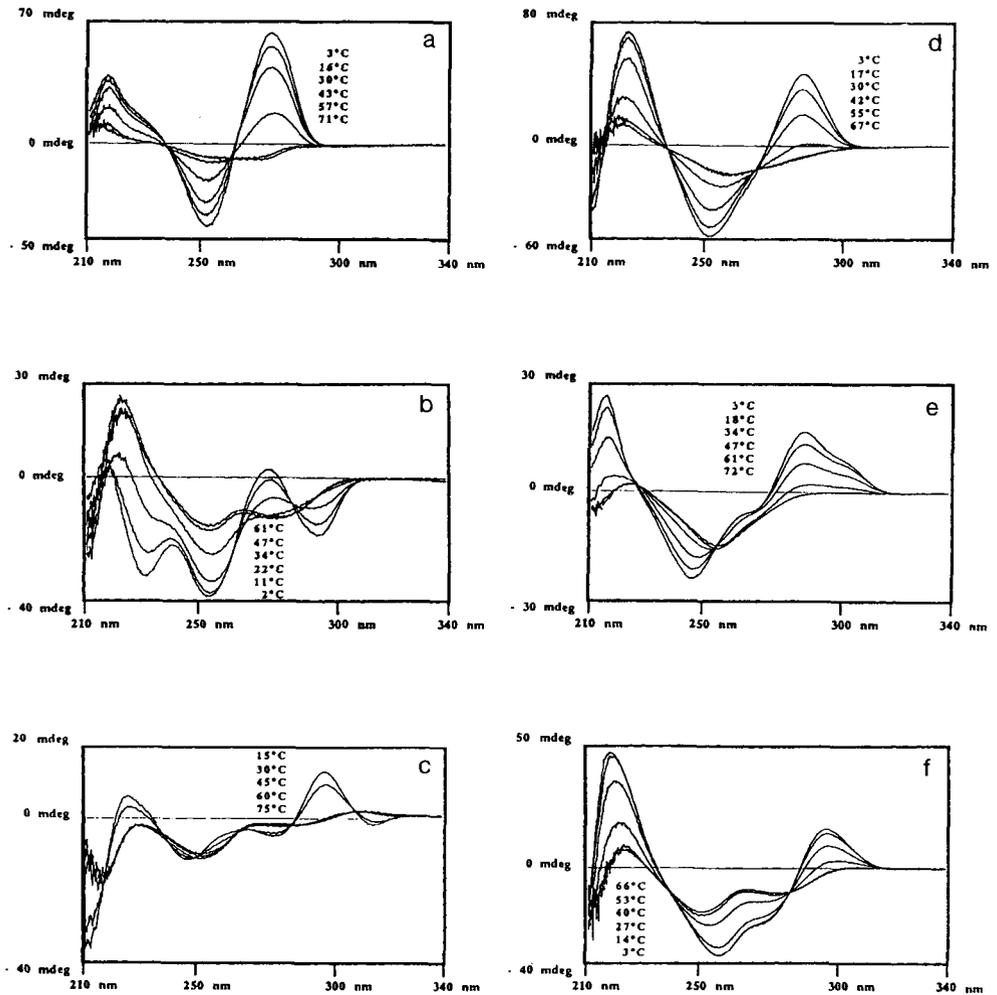


Fig. 19. Temperaturabhängige CD-Spektren von a) *ddGlc*(A_6) (17 μ M); b) *ddGlc*(D_6) (19 μ M); c) *ddGlc*(I_6) (19 μ M); d) *ddGlc*($D-D-A-D-A-A$) (19 μ M); e) *ddGlc*($A-A-I-A-I-I$) (17 μ M) und f) *ddGlc*($D-D-I-D-I-I$) (20 μ M). Alle Messungen 0,15M NaCl, 0,01M Tris · HCl, pH 7.0*).

*) CD-Spectroscopic characterization of self- and cross-pairing of *ddGlc*-hexamers containing purines of the adenine type. Temperature-dependent CD spectra of: a) *ddGlc*(A_6) (from [3]); b) *ddGlc*(D_6); c) *ddGlc*(I_6); d) *ddGlc*($D-D-A-D-A-A$); e) *ddGlc*($A-A-I-A-I-I$); f) *ddGlc*($D-D-I-D-I-I$). For methodology and conditions, see [3].

Annahme der Bildung von Duplexen vereinbar und sind in Tab. 5 den in unserer früheren Untersuchung [3] unter gleichen Bedingungen für *ddGlc*(A_6) und *ddGlc*(G_6) ermittelten Daten gegenübergestellt. Ihr Vergleich stützt die Annahme eines analogen Paarungsmodus für die drei Duplexe.

Die gegenseitige Austauschbarkeit der drei Basen der Adenin-Gruppe (A, D und I) im Verbund eines homo-DNS-Duplexes legen mit Nachdruck die Vorstellung nahe, dass

Tab. 5. T_m -Werte und thermodynamische Daten von ausgewählten (Purin-Purin)-gepaarten homo-DNS-Duplexen

	ΔH [kcal/mol]	$T\Delta S$ [kcal/mol]	$\Delta G/298^\circ\text{K}$ [kcal/mol]	T_m [$^\circ\text{C}$]
ddGlc(I I I I I I) (I I I I I I)ddGlc diese Arbeit ^{a)} [9] [11]	-43,5	-35,2	-8,3	42° (19 μM)
ddGlc(AAAAAA) (AAAAAA)ddGlc vgl. [3]	-39,2	-30,2	-9,2	47° (15 μM)
ddGlc(GGGGGG) (GGGGGG)ddGlc vgl. [3]	-45,2	-36,7	-8,4	38° (15 μM)
ddGlc(I G I G I G) (G I G I G I)ddGlc diese Arbeit ^{b)} [9] [11]	-48,6	-37,8	-10,8	55° (22 μM)
ddGlc(G I G I G I) (I G I G I G)ddGlc diese Arbeit ^{c)} [9] [11]	-45,9	-35,8	-10,1	50° (23 μM)
ddGlc(CGCGCG) (GCGCGC)ddGlc vgl. [3]	-41,4	-30,8	-10,6	62° (35 μM)
ddGlc(GCGCGC) (CGCGCG)ddGlc vgl. [3]	-39,7	-29,4	-10,3	64° (50 μM)

^{a)} $c = 7,7\text{--}29,8 \mu\text{M}$; 0,15M NaCl, 0,01M Tris · HCl, pH 7, vgl. [11]. ^{b)} $c = 10,6\text{--}74,7 \mu\text{M}$; gleiche Bedingungen, vgl. [11]. ^{c)} $c = 8,5\text{--}75,6 \mu\text{M}$, gleiche Bedingungen, vgl. Fig. 24 und [11].

alle drei Basen in ihrer Selbst- und Mischpaarung als gemeinsamen Paarungsmodus den früher für die Selbstpaarung des Adenins experimentell nachgewiesenen *RH*-Modus benützen. Die dabei vorab möglichen Paarungs-Kombinationen sind in Fig. 20 formuliert. Die sich ergebende Vielfalt von insgesamt neun konstitutionell unterschiedlichen, jedoch *quasi*-isomorphen Basenpaaren kommt dadurch zustande, dass im *RH*-Modus jeweils zwei unterschiedliche Purin-Basen entweder mit ihrer *H*- oder mit ihrer *WC*-Flanke an der Paarung teilnehmen können. Mit welcher Flanke eine Base dies in einem gegebenen Fall tut, wird von ihrer Position in der jeweiligen Basensequenz abhängen. Alle Paarungsvarianten der Fig. 20 gehen mit antiparalleler Strang-Anordnung und durchgehender (*anti/anti*)-Konformation an sämtlichen nucleosidischen Bindungen einher. Beim prototypischen Beispiel der Selbstpaarung von ddGlc(A₆) ist im entsprechenden Duplex sowohl die antiparallele Strang-Orientierung, wie auch die durchgehende *anti*-Konformation der (Adenin-Zucker)-Verknüpfung ¹H-NMR-spektroskopisch belegt [3].

Die vielleicht bedeutendste Ungewissheit in den durch Fig. 20 vorgebrachten Konstitutionszuordnungen betrifft das Isoguanin. Sie steht mit der für diese Base akuten Frage nach der Lage ihres Tautomerie-Gleichgewichts in Zusammenhang (mehr darüber im Kap. 4) und rührt daher, dass Isoguanin in einem *RH*-Basenpaar mit der *WC*-Flanke

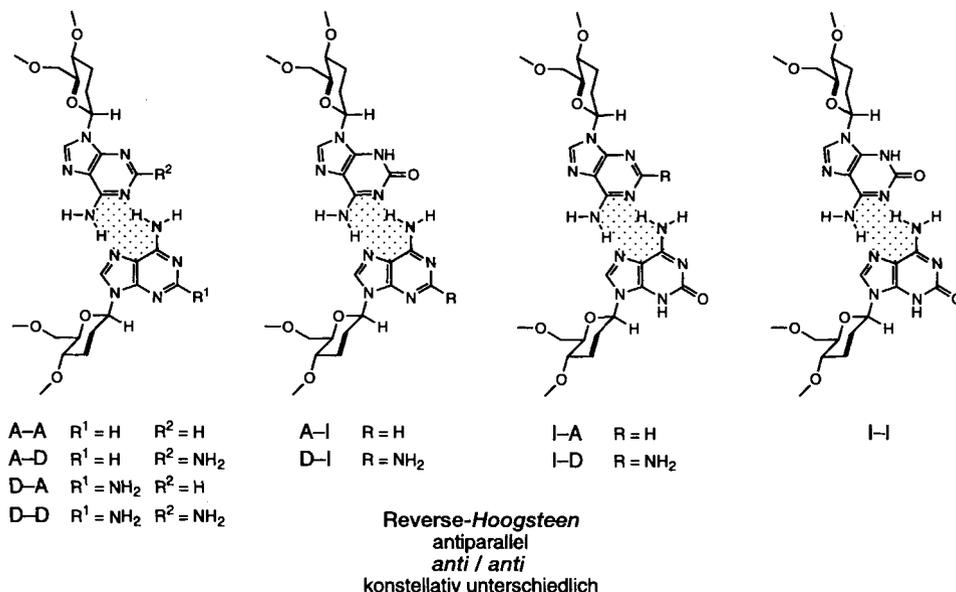


Fig. 20. Zuordnung des Paarungsmodus für die Selbst- und Kreuzpaarung von ddGlc-Hexameren des Adenin-Typs*)

*) Hypothetical common mode of self- and cross-pairing of ddGlc hexamers containing purines of the adenine type. The observed mutual exchangeability of A, D, and I in the hexamers supports the hypothesis that pairing proceeds in all cases in the *RH* mode, as previously established [3] for the self-pairing of ddGlc(A₆). Cross-pairings have two options, depending on which of the two bases engages its *H* site, and which its *WC* site.

seine Funktion als Paarungspartner entweder als 3*H*- oder 1*H*-Tautomer³⁸) erfüllen kann. Die beiden Varianten – in Fig. 21 (oben) für den Fall der Isoguanin-Selbstpaarung formuliert – sind konstellativ um ein Geringes verschieden, und zwar genau gleich wie dies die beiden prototypischen *RH*-Selbstpaarungen des Adenins und des Guanins (Fig. 21, unten) sind. Wir konnten früher zeigen, dass diese beiden homopurinischen Paarungen in homo-DNS-Duplexen ohne merkliche Destabilisierung nebeneinander auftreten können (vgl. [3], dort S. 281–291), womit wir dies auch für die beiden *RH*-Varianten des Isoguanins annehmen. Indessen dürfte für die Mischpaarungen des Isoguanins (mit seiner *WC*-Flanke) die 3*H*-Paarungsvariante wohl die wahrscheinlichere sein; die Frage aber, ob bei der Selbstpaarung von ddGlc(I₆) die Isoguanine eines der beiden Stränge in der 3*H*- oder 1*H*-Variante teilnehmen, ist offen zu lassen; die bisher beigebrachten Daten (inklusive die CD-Spektren) erlauben hierüber keine Entscheidung.

Generell stellt sich für einen homo-DNS-Duplex mit all-purinischer Paarung nach dem *RH*-Modus bei näherem Hinsehen die Frage, in welcher Abfolge entlang eines gegebenen Strangs die Purin-Basen sich mit ihrer *H*- bzw. *WC*-Flanke am Paarungsprozess beteiligen (vgl. die bildliche Darstellung der Fragestellung im Teil III [3], S. 333–334).

³⁸) Wenn Isoguanin mit seiner *H*-Flanke an der *RH*-Paarung teilnimmt, ist die Frage nach der Tautomerie nicht unbedingt von Bedeutung.

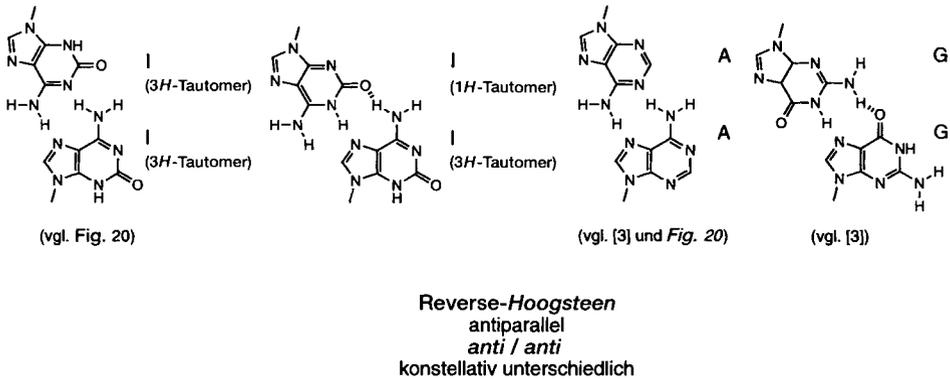


Fig. 21. Mögliche Varianten des Paarungsmodus für die Selbstpaarung von $ddGlc(I_6)^*$

*) Pairing involving isoguanine. When I engages in *RH* self- or cross-pairing, it has two options for using its *WC* site, depending on whether the base operates as its *1H*- or its *3H*-tautomer. The difference in the constellational positioning of the purine nuclei in the two versions is similar to that in the *A-A RH* pair as compared to the *G-G RH* pair, as discussed previously [3]. In cross-pairing of hexamers such as $ddGlc(A-A-I-A-I-I)$, I presumably operates as its *3H*-tautomer.

Über diese vermutlich einer raschen Dynamik unterliegende und durch bevorzugte Gleichgewichtslagen bestimmte Abfolge haben wir keinerlei Kenntnis.

Kommen für die Selbst- und Mischpaarungen des 2,6-Diaminopurins und Isoguanins und Adenins nebst dem in obiger Darstellung als bevorzugt behandelten *RH*-Modus nach andere Paarungsmodi in Betracht?

Rein vom Gesichtspunkt der Basenpaar-Konstitution her liesse sich eine Selbstpaarung des 2,6-Diaminopurin-Kerns nach einem *RWC*-Modus, einem *H*-Modus und dem *DH*-Modus formulieren (vgl. [9], S. 97). Bei Unterstellung von durchgehender *anti*-Konformation der nucleosidischen Bindungen entfallen aber alle diese Möglichkeiten, weil sie eine parallele Strang-Orientierung erfordern würden (*Tab. 4*). In der homo-DNS-Reihe sind, wenn immer dies an Duplexen NMR-spektroskopisch abgeklärt wurde [3][4][11][55], bislang keine *syn*-Konformationen an nucleosidischen Bindungen angetroffen worden. Aus analogen Gründen sind für die Selbstpaarung des Isoguanins eine zusätzlich formulierbare *RWC*-Variante (*1H*- mit *3H*-Tautomer) sowie die Doppel-Hoogsteen-Variante (Tautomerie-unabhängig) hintanzustellen. Hingegen verbleiben die in *Fig. 22* wiedergegebenen *WC*-Varianten der Selbstpaarung von D und der Mischpaarung von D mit A sowie von D mit I als grundsätzlich erlaubte Möglichkeiten. Demgegenüber steht der *WC*-Modus aus konstitutionellen Gründen weder der Selbstpaarung von A und I, noch der Mischpaarung zwischen A und I zur Verfügung.

Zwar spricht viel für die Annahme, dass die Purin-Basen Adenin, 2,6-Diaminopurin und Isoguanin einen bestimmten und unter sich unabhängig von der Basensequenz immer gleichen Paarungsmodus bevorzugen, doch eine Gewähr besteht hierfür nicht. So z. B. kann im Duplex der Sequenz $ddGlc(DDIDII)$ die (D-I)-Paarung (fakultativ) im *WC*-Modus (*Fig. 22*) erfolgen, die (I-I)-Paarung im Duplex der Sequenz $ddGlc(IIIII)$ muss jedoch (obligat) dem *RH*-Modus (*Fig. 21*) entsprechen. Auch ein Vergleich der

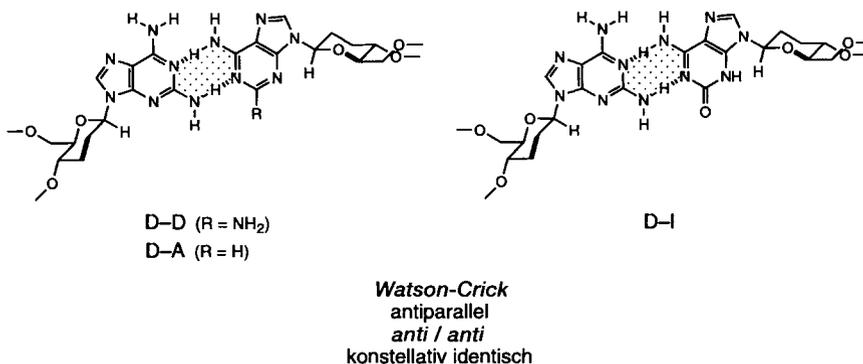


Fig. 22. Zusätzliche Möglichkeiten bei Selbst- und Kreuzpaarungen mit 2,6-Diaminopurin^{*})

- ^{*}) Provided that anti-parallel strand orientation and all-*anti*-conformation of bases in duplexes are maintained throughout, the only mode options for self-pairings and cross-pairings of the adenine-type purine bases available, beyond those already shown in *Figs. 20* and *21*, are *WC* pairs involving D. This mode is available neither for self-pairing of, nor for cross-pairing between, A and I. For a summary of postulated pairing modes involving the adenine-type purines, see *Table 6*.

vorliegenden CD-Spektren (*Fig. 19*) erlaubt hier keine Entscheidung. Der *Status quo* unserer Konstitutionszuordnungen für (Purin-Purin)-Paarungskomplexe der Adenin-Familie ist aus *Tab. 6* ersichtlich.

Tab. 6. Daten von (Purin-Purin)-gepaarten Duplexen des Hoogsten-Typs^{a)}

(Purin-Purin)-Duplex	T_m [°C] (Konzentration)	Hyperchromizität (Detektionswellenlänge)	postulierte (bzw. mögliche) Paarungsmodi
- AAAAAA [3] AAAAAA -	47° (15 μM) [3]	8% (260 nm)	RH (<i>Fig. 21</i>)
- DDDDDD [9] DDDDDD -	36° (19 μM) [3]	12% (245 nm)	RH, WC (<i>Fig. 20</i>)
- I I I I I I [9] I I I I I I -	42° (19 μM)	27% (305 nm)	RH (<i>Fig. 21</i>)
- DDADAA [9] AADADD -	42° (19 μM)	14% (255 nm)	RH, WC (<i>Fig. 20</i> und <i>22</i>)
- AAIAII [9] IIAIIA -	43° (17 μM)	35% (295 nm)	RH (<i>Fig. 20</i>)
- DDIDII [9] IIDIDD -	39° (20 μM)	25% (295 nm)	RH, WC (<i>Fig. 20</i> und <i>22</i>)

^{a)} 0,15M NaCl, 0,01M Tris · HCl, pH 7.

3.4. Die dipurinischen, dreizähligen Watson-Crick-Basenpaare Guanin-Isoguanin und 2,6-Diaminopurin-Xanthin. Vereinigt man Lösungen äquimolarer Mengen der homopurinischen *RH*-Duplexe $[ddGlc(G_6)]_2$ und $[ddGlc(I_6)]_2$ unter Paarungs-Standardbedingungen, so bildet sich unter Umpaarung der Stränge ein Mischkomplex $ddGlc(G_6) \cdot ddGlc(I_6)$, dessen T_m -Wert um rund 20° höher liegt als jener der Ausgangskomplexe (Fig. 23 und 24,a). Die Umpaarung manifestiert sich im CD-Spektrum des Mischkomplexes im Vergleich zur (berechneten) Summe der CD-Spektralwerte der bei-

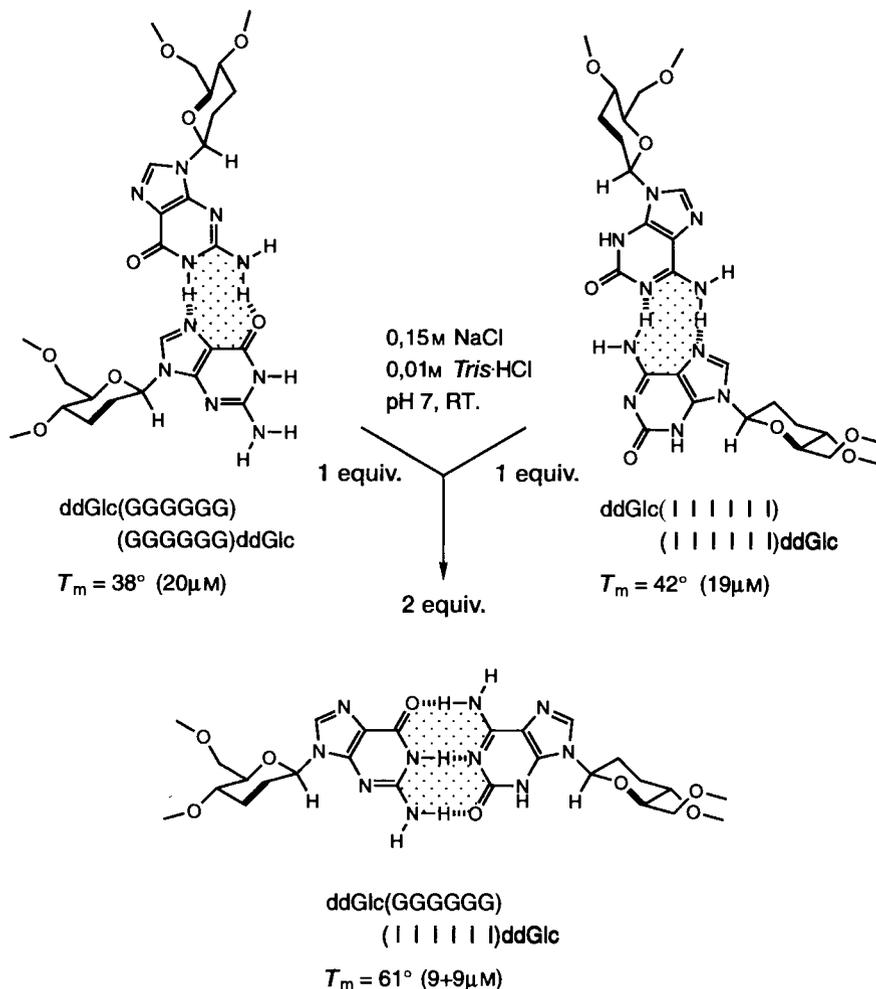


Fig. 23. Watson-Crick-Paarung von $ddGlc(G_6)$ mit $ddGlc(I_6)$ *)

*) Mixing equimolar amounts of the self-paired 1:1 duplexes $ddGlc(G_6)$ and $ddGlc(I_6)$ under standard conditions of a T_m determination results in *trans*-duplexation to form a mixed 1:1 duplex; all its properties (Figs. 24 and 25) corroborate the hypothesis that it is the G-I WC duplex. Note that this assignment requires isoguanine to participate in the pairing as the 3*H*-tautomer.

den Ausgangskomplexe (Fig. 25, a and b, und Fig. 19, c, sowie Fig. 10, e, im Teil III [3]). Die bei 20° ermittelte Mischkurve (Fig. 24, e) dokumentiert die (1:1)-Stöchiometrie des Mischkomplexes. Die Vorstellung, wonach in diesem Umpaarungsprozess je sechs (Purin-Purin)-Paare (Guanin-Guanin und Isoguanin-Isoguanin) des *RH*-Modus sich in zwölf (Guanin-Isoguanin)-Paare des *WC*-Modus umwandeln, wird durch die Paarungseigenschaften folgender selbstkomplementärer Mischsequenzen gestützt: ddGlc(I-I-G-I-G-G), ddGlc(I-G-I-G-I-G), ddGlc(G-I-G-I-G-I), ddGlc(G-G-G-I-I-I) und ddGlc(I-I-I-G-G-G) (Fig. 24, b, und Fig. 25, c–f). Die Selbstpaarungs-Komplexe dieser Mischsequenzen zeigen T_m -Werte, die sowohl unter sich, wie auch bezüglich des T_m -Werts des Mischpaarungs-Komplexes ddGlc(G₆) · ddGlc(I₆) vergleichbar hoch, dabei

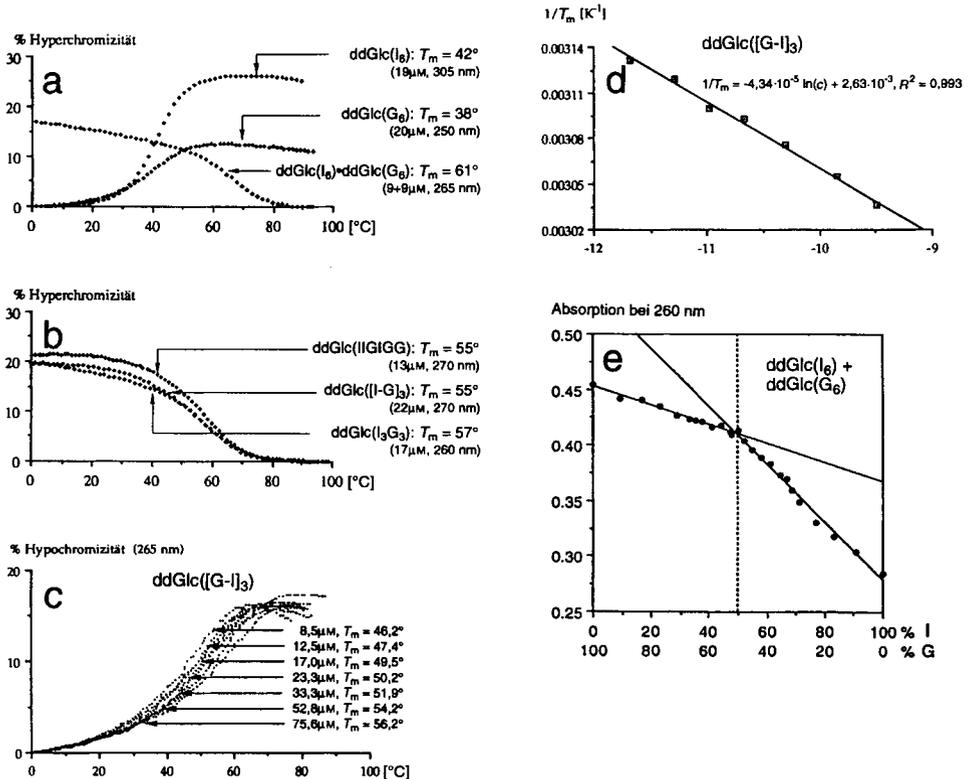


Fig. 24. Schmelzkurven von a) ddGlc(I₆), ddGlc(G₆) und eines (1:1)-Gemisches von ddGlc(I₆) und ddGlc(G₆); b) ddGlc(I₃G₃), ddGlc([I-G]₃) und ddGlc(I-I-G-I-G-G); c) ddGlc([G-I]₃); d) Plot $1/T_m$ vs. $\ln c$ aus Schmelzkurven von ddGlc([G-I]₃); e) Mischkurve von ddGlc(I₆) · ddGlc(G₆) (20°, $c_{\text{tot}} = 20 \mu\text{M}$). Alle Messungen 0,15M NaCl, 0,01M Tris · HCl, pH 7,0*).

*) Guanine-isoguanine *WC* pairing. a) T_m curves of ddGlc(G₆) · ddGlc(I₆) duplex juxtaposed with T_m curves of self-paired duplexes of ddGlc(G₆) and ddGlc(I₆). b) T_m curves of duplexes of self-complementary G- and I-containing hexamer sequences; note close similarity of T_m values. c) Concentration dependence of T_m values of duplex formed by the self-complementary sequence ddGlc(G-I-G-I-G-I). d) Evaluation of data from c) to derive thermodynamic data of duplexation according to [71] [72] (see also [3]). The data (see Table 5) corroborate the assignment of duplex stoichiometry. e) Mixing curve for 1:1 duplex ddGlc(G₆) · ddGlc(I₆) 20°, $\sum c = 14 \mu\text{M}$.

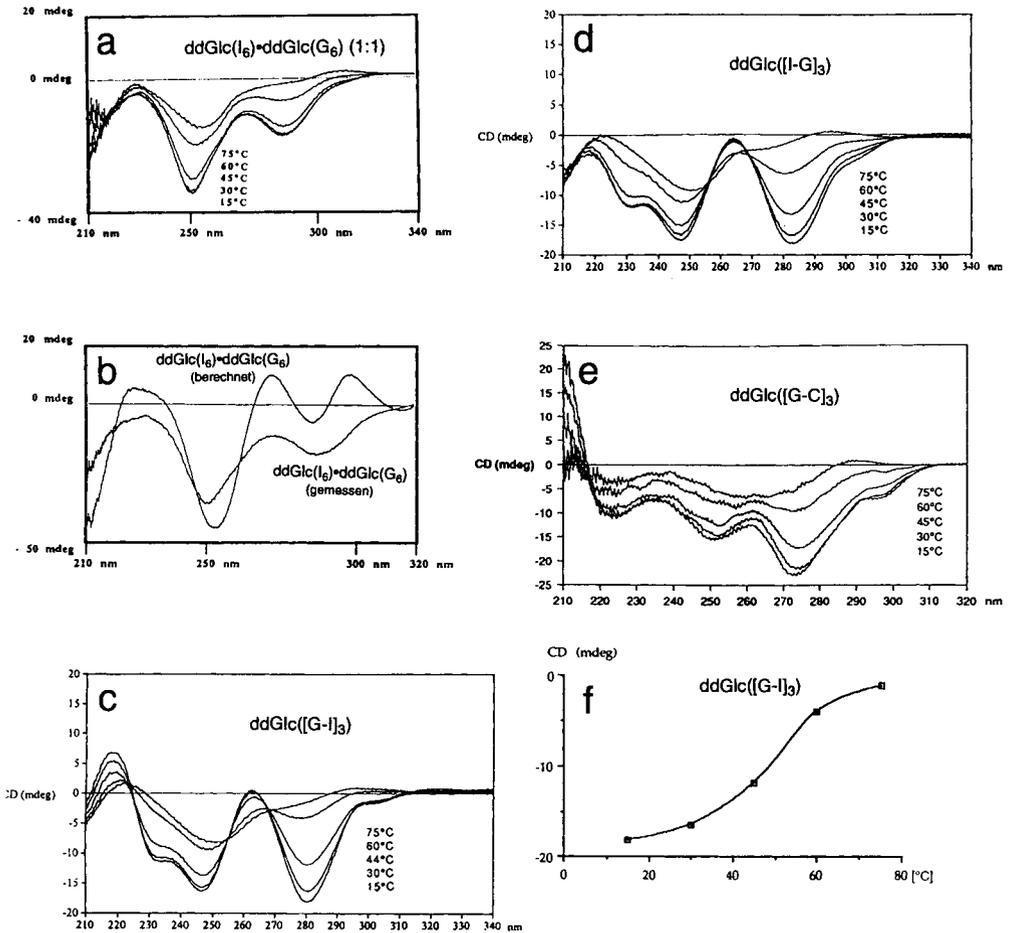


Fig. 25. a) Temperaturabhängige CD-Spektren von $ddGlc(I_6) \cdot ddGlc(G_6)$ ($9 + 9 \mu\text{M}$); b) Vergleich des berechneten CD-Additionsspektrums von $ddGlc(I_6)$ ($19 \mu\text{M}$) und $ddGlc(G_6)$ ($15 \mu\text{M}$) mit dem Spektrum des Duplexes $ddGlc(I_6) \cdot ddGlc(G_6)$ ($9 + 9 \mu\text{M}$) bei 15° ; c) CD-Spektren von $ddGlc([G-I]_3)$ ($23 \mu\text{M}$); d) von $ddGlc([I-G]_3)$ ($24 \mu\text{M}$) und e) von $ddGlc([G-C]_3)$ ($22 \mu\text{M}$); f) Schmelzkurve von $ddGlc([G-C]_3)$ ($22 \mu\text{M}$) aus dem CD-Spektrum bei 280 nm . Alle Messungen $0,15\text{M NaCl}$, $0,01\text{M Tris} \cdot \text{HCl}$, $\text{pH } 7,0^*$.

*) Temperature-dependent CD spectra of purine-purine duplexes containing G and I. a) 1:1 Mixture of duplexes of $ddGlc(G_6)$ and $ddGlc(I_6)$. b) Comparison of observed (low temperature) CD spectrum taken from a with a theoretical CD curve calculated as the 1:1 addition of the CD spectra of self-paired duplexes. c) CD Curves for duplex derived from $ddGlc(G-I-G-I-G-I)$. d) CD Curves for duplex derived from $ddGlc(I-G-I-G-I-G)$. e) CD Curves for duplex derived from $ddGlc(G-C-G-C-G-C)$ [3] for comparison. f) T_m Curve derived from temperature-dependent CD spectrum of $ddGlc(G-I-G-I-G-I)$ ($\lambda = 280 \text{ nm}$). For this duplex, it was also shown (see [11]) that its T_m value (UV) remains unchanged within the pH range of 5.3–8.0.

aber durchgehend höher liegen als die T_m -Werte der im voranstehenden Kapitel behandelten Komplexe mit homopurinischer Paarung. Die für die Selbstpaarungskomplexe der Sequenzen $ddGlc(G-I-G-I-G-I)$ und $ddGlc(I-G-I-G-I-G)$ aus der Konzentrations-Abhängigkeit der T_m -Werte (Fig. 24, c und d) bestimmten thermodynamischen Daten sind

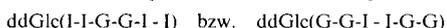
– sofern man die Messwerte mit Unterstellung des Vorliegens von Duplexen auswertet (vgl. [71] und [11], S. 152) – ähnlich denen der entsprechenden (Purin-Pyrimidin)-Duplexe ddGlc(G-C-G-C-G-C) und ddGlc(C-G-C-G-C-G) (Tab. 5). Fig. 25, f, dokumentiert für die Sequenz ddGlc(G-I-G-I-G-I) als Beispiel, dass die UV- und CD-spektroskopisch bestimmten T_m -Werte in der Reihe der selbstkomplementären (Guanin-Isoguanin)-Sequenzen befriedigend übereinstimmen. Die hohe gegenseitige Ähnlichkeit der CD-Spektren innerhalb dieser Reihe (Fig. 25, a–d) und ihr Vergleich mit dem CD-Spektrum des WC-Duplexes von ddGlc(G-C-G-C-G-C) (Fig. 25, e) stützt die Vorstellung, dass alle untersuchten Duplexe den gleichen Paarungsmodus, nämlich den dreizähligen WC-Modus, betätigen. Diese bei (Purin-Purin)-Paarungen bisher nicht angetroffene Paarungsart drängt sich auch aus konstitutionellen Gründen auf. Bei durchgehender *anti*-Konformation der Purin-Basen verlangt sie antiparallele Strang-Orientierung. Dass diese ganz offensichtlich befolgt wird, geht aus der ungebrochenen Kohärenz der Paarungseigenschaften der untersuchten Sequenzen hervor, unter welchen mehrere spezifisch antiparallel (und nicht parallel) komplementär sind³⁹).

Eine WC-Paarung zwischen Guanin und Isoguanin sollte, wie dies für die WC-Paarung zwischen Guanin und Cytosin zutrifft, im mittleren pH-Bereich von der Azidität des Mediums unabhängig sein. Dies ist der Fall: ddGlc(G-I-G-I-G-I) schmilzt im pH-Bereich 5,3 bis 8,0 innerhalb der Spanne 51,8–52,6° (12 μ M) (vgl. Dokumentation in [11], S. 153).

Der Versuch einer NMR-spektroskopischen Strukturbestimmung des antiparallel-selbstkomplementären homo-DNS-Duplexes [ddGlc(I-I-G-I-G-G)]₂ ist leider misslungen⁴⁰). Dies spricht nicht etwa gegen die Konstitutionszuordnung einer (Guanin-Isoguanin)-Paarung des WC-Typs (sondern, wenn schon, dann eher dafür; vgl. die im Kap. 2.5 darüber gemachten Bemerkungen). Leider sind auch die Versuche zum Röntgenstrukturanalytischen Nachweis des Paarungsmodus gescheitert. Zwar gelang die Kristallisation des Paarungskomplexes von ddGlc(I-I-G-I-G-G) in Gegenwart von Spermin in verschiedenen (scharfkantigen) Kristall-Formen, doch die Untersuchung von zwei Kristall-Proben ergab Röntgen-Beugungsmuster von nur geringer Qualität³⁰). Fehlordnung im Kristall-Gitter eines (vermutlich) *quasi*-linearen, aus Paaren isomorpher Purin-Partner aufgebauten homo-DNS-Duplexes wäre eine der möglichen Gründe. Kristallisationsversuche an Proben von ddGlc(G-I), ddGlc(I-G), ddGlc(G-I-G-I) und ddGlc(I-G-I-G) blieben ohne Erfolg [11].

Nicht zuletzt war es der Misserfolg der Versuche, mit physikalischen Strukturermittlungsmethoden den Beweis für den WC-Modus der (Guanin-Isoguanin)-Paarung zu

³⁹) In der Dissertation von L. Peng [11] (S. 158 ff) sind zusätzlich CD-spektroskopische Befunde beschrieben, die dafür sprechen, dass die palindromischen Sequenzen ddGlc(I-I-G-G-I-I) und ddGlc(G-G-I-I-G-G) (T_m je 45°; 25 μ M) für sich selbst nicht homopurinisch, sondern heteropurinisch als WC-Duplexe paaren:



Der nachstehend wiedergegebene Mischkomplex schmilzt bei 52° (je 12,5 μ M):



⁴⁰) Eine Dokumentation der von J. O'Conelle (Postdoktorat 1992, Institut für Molekularbiologie und Biophysik, ETH-Zürich) durchgeführten Messungen findet sich in [11] (S. 164–168).

erbringen, welcher uns schliesslich auf das in der Arbeit über homo-DNS bereits früher (vgl. Kap. 2.3) verwendete Mittel des Einsatzes von 7-Carbapurin-Derivaten, hier des 7-Carbaganins⁴¹⁾, zurückgreifen liess. Im homo-DNS-Hexamere ddGlc[(^{7C}G)₆] sind sämtliche didentalen Paarungsvorgänge an der *H*-Flanke unterbunden und Basenpaarung demzufolge nur noch an der *WC*-Flanke möglich.

Der in Fig. 26 wiedergegebene Vergleich zwischen ddGlc(G₆) und dem 7-Carba-Analogen ddGlc[(^{7C}G)₆] weist nach, was man von letzterem erwartet, nämlich sein Unvermögen, mit sich selbst nach dem *RH*-Modus so zu paaren, wie dies ddGlc(G₆) tut⁴²⁾. Demgegenüber erweist sich das Paarungsvermögen von ddGlc[(^{7CH}G)₆] an seiner *WC*-Flanke als völlig ungestört: im (1 : 1)-Gemisch mit ddGlc(C₆) beobachtet man ein der kanonischen *WC*-Paarung zwischen Guanin und Cytosin (vgl. [3] S. 305) völlig analoges Verhalten (Fig. 27, *a–c*), und mit ddGlc(I₆) bildet sich ein Duplex, der gemäss seinem sowohl UV- wie auch CD-spektroskopisch bestimmten *T_m*-Wert und auch gemäss seinem temperaturabhängigen CD-Spektrum dem Mischpaarungskomplex ddGlc(G₆) · ddGlc(I₆) (vgl. Fig. 24, *a* und *e*, und Fig. 25, *a*) unmissverständlich entspricht⁴³⁾. Den in Fig. 27 enthaltenen Daten kommt so etwas wie der Rang eines 'chemischen Beweises' für die Richtigkeit der Hypothese zu, wonach die (Guanin-Isoguanin)-Paarung in der homo-DNS-Reihe den (dreizähligen) *WC*-Modus betätigt.

Genau genommen würde ein solcher 'chemischer Beweis' noch des Experiments bedürfen, in welchem das Paarungsverhalten zwischen ddGlc-Hexameren zu prüfen wäre, in welchen nicht nur die Guanin-, sondern auch die Isoguanin-Kerne als 7-Carba-Derivate eingesetzt würden; nur so wäre auch noch die (formale) Möglichkeit auszuschliessen, dass im Duplex ddGlc[(^{7CH}G)₆] · ddGlc(I₆) 7-Carbaganin mit der *WC*-Flanke, Isoguanin jedoch mit der *H*-Flanke paaren. Ein solcher Komplex müsste – da die Strang-Orientierung antiparallel zu sein hat (vgl. Kap. 3.2 und Fig. 24, *b*) – den (zweizähligen) *RH*-Modus betätigen, und in ihm hätte bei jedem Basenpaar eine der Basen die *syn*-Konformation aufzuweisen (Fig. 28). Das thermodynamische Argument, wonach ein zweizähliger Paarungsmodus gegen einen dreizähligen – *ceteris paribus* – nicht aufkommen würde, könnte im Extremfall durch (uns unbekannt) homo-DNS-spezifische Gegebenheiten in der Rückgrat-Geometrie invalidiert werden. Träfe dies – und damit die in Fig. 28 (links) wiedergegebene Konstitution des (Guanin-Isoguanin)-Basenpaars – zu, dann müsste auf Grund der gleichen geometrischen Gegebenheiten Guanin eine starke Paarung mit Adenin und 2,6-Diaminopurin eingehen. Dies ist nicht der Fall (vgl. Kap. 3.6). Eine analoge Argumentation ist auch bezüglich der nachstehend dokumentierten, topologisch der (Guanin-Isoguanin)-Paarung analogen Paarung zwischen Xanthin und 2,6-Diaminopurin gültig.

Das Hexamere des ddGlc-Xanthosins zeigt im Unterschied zum entsprechenden Hexameren des 2,6-Diaminopurins keine Selbstpaarung. Äquimolare Gemische der beiden Hexameren bilden indessen – völlig analog zum Verhalten der entsprechenden Hexameren mit den isomorphen Basen Guanin und Isoguanin – einen gemäss seines hohen *T_m*-Wertes von 66° (5 + 5 μM, pH 7) überragend stabilen Mischpaarungskomplex, dessen Formulierung als (Purin-Purin)-Duplex des *WC*-Typs aus konstitutionellen Gründen

⁴¹⁾ Über analoge Beispiele der Verwendung von 7-Carbaganin-Derivaten zum Zwecke der Verhinderung von Basenpaarung des *Hoogsteen*-Typs vgl. [44][73][74].

⁴²⁾ Die Selbstpaarung von ddGlc(G₆) ist im Teil III dieser Reihe [3] beschrieben. Die Konstitutionszuordnung war damals in Anlehnung an das entsprechende Verhalten von ddGlc(A₆) vorgenommen worden; das hier nachgelieferte Experiment mit ddGlc [(^{7C}G)₆] bestätigt die damals gemachte Zuordnung.

⁴³⁾ Die UV-spektroskopische Bestimmung der Schmelztemperaturen ist beim Paarungsexperiment mit ddGlc(I₆) bei der Wellenlänge 265 nm (Fig. 24, *a*), bei jenen mit ddGlc[(^{7CH}G)₆] bei 295 nm (Fig. 27, *d*) detektiert worden (vgl. den starken Unterschied der beiden Versuchsreihen bezüglich der Hypo- bzw. Hyperchromizität).

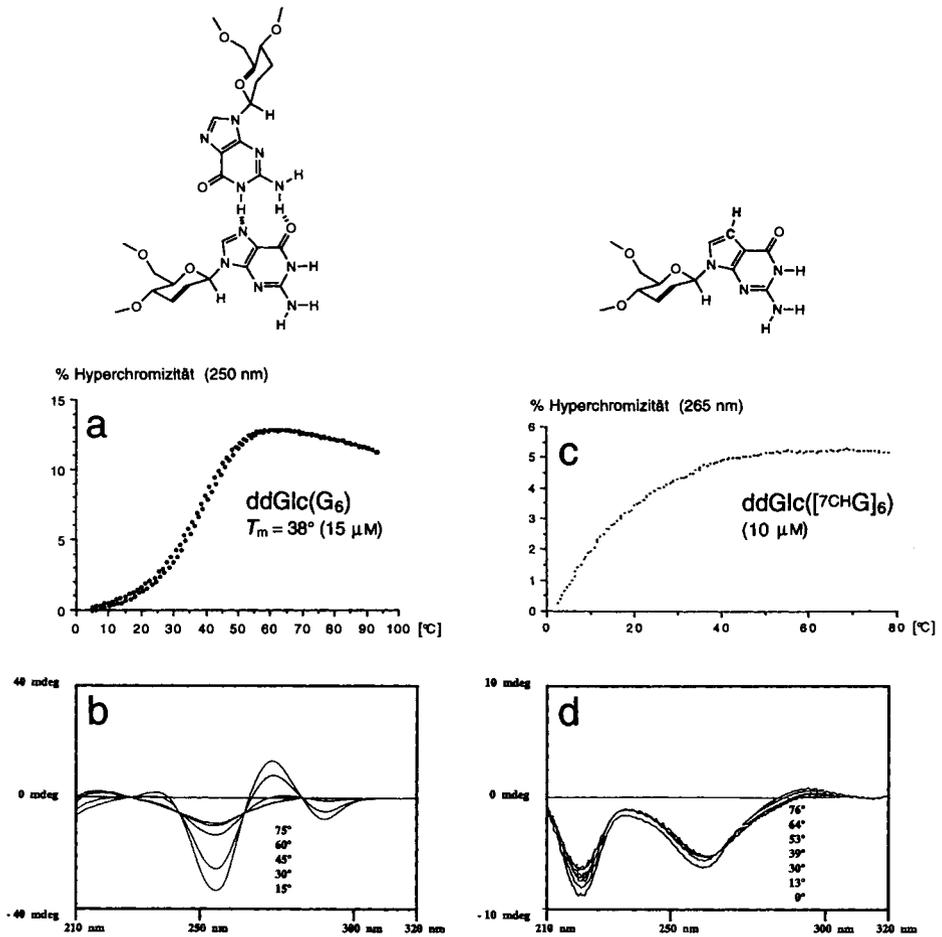


Fig. 26. Schmelzkurven von a) *ddGlc(G)₆* und c) *ddGlc([⁷CHG]₆)*; temperaturabhängige CD-Spektren von b) *ddGlc(G)₆* (11 μ M) und d) *ddGlc([⁷CHG]₆)* (9 μ M). Alle Messungen 0,15M NaCl, 0,01M Tris · HCl, pH 7,0*).

*) An attempt to analyze the solution structure of the self-pairing duplex from *ddGlc(I-I-G-I-G-G)* failed²⁸⁾⁴⁰⁾ because of heavy signal overlap in the 600-MHz ¹H-NMR spectrum. Reproductions of the spectra appear in [11], p. 164–168. Useful X-ray diffraction data also was unobtainable³⁰⁾. Therefore, the ‘chemical method’ of corroborating the constitutional hypothesis of G-I WC pairing by making use of 7-carbaganine was applied. As the melting curves and temperature-dependent CD spectra of *ddGlc(G)₆* (a and b) compared to the curves obtained with *ddGlc([⁷CHG]₆)* (curves c and d) show, no self-pairing is discernible in the latter. This corroborates the assignment of G-G RH pairing postulated earlier [3].

offensichtlich erscheint (Fig. 29 und 30,a). Analog zum Verhalten der Guanin- und Isoguanin-haltigen Hexameren bilden auch hier die selbstkomplementären Sequenzen *ddGlc(X-X-X-D-D-D)* und *ddGlc(X-D-X-D-X-D)* Selbstpaarungskomplexe von vergleichbarer bzw. wenig geringerer Stabilität (T_m 61° bzw. 56°, 10 bzw. 19 μ M, pH 7; vgl. Fig. 30,b–d).

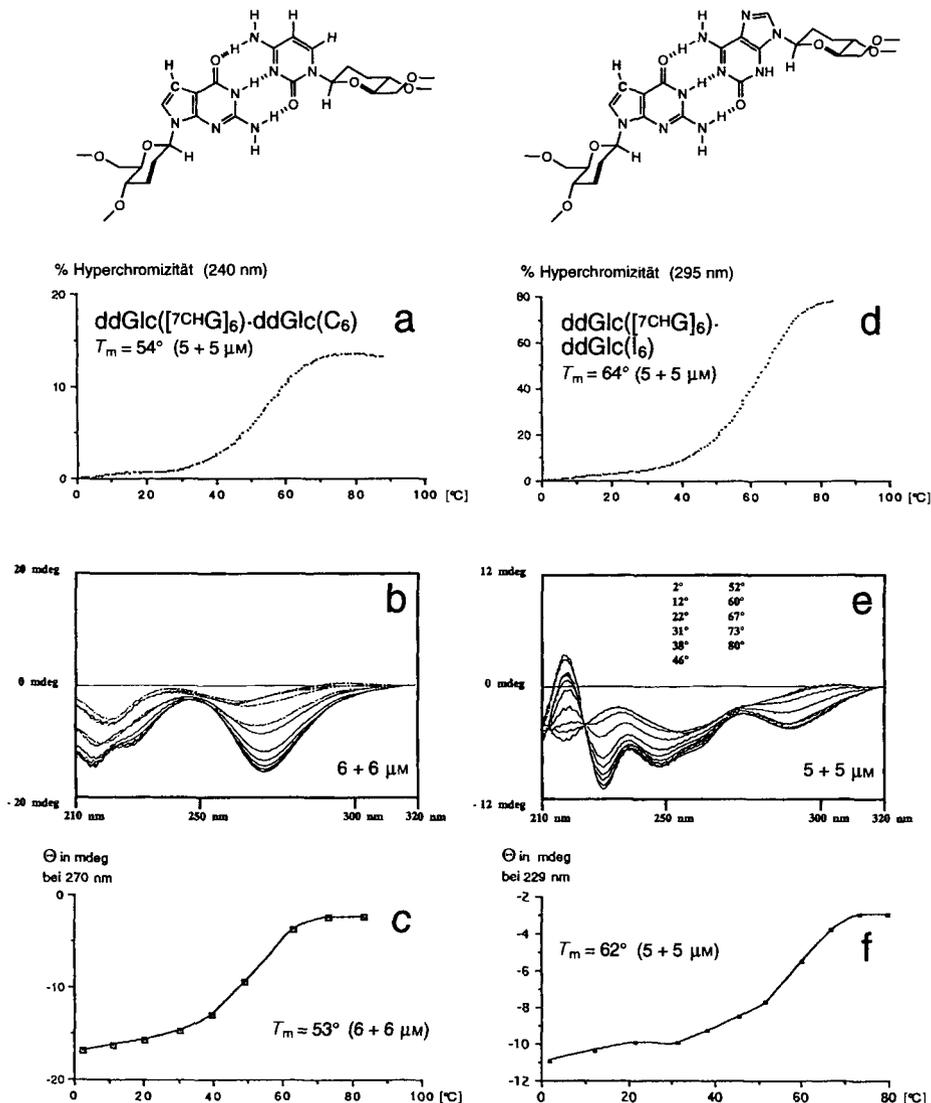


Fig. 27. UV-Schmelzkurven a) von $\text{ddGlc}({}^7\text{CHG}_6) \cdot \text{ddGlc}(\text{C}_6)$ und d) von $\text{ddGlc}({}^7\text{CHG}_6) \cdot \text{ddGlc}(\text{I}_6)$; temperaturabhängige CD-Spektren b) von $\text{ddGlc}({}^7\text{CHG}_6) \cdot \text{ddGlc}(\text{C}_6)$ und e) von $\text{ddGlc}({}^7\text{CHG}_6) \cdot \text{ddGlc}(\text{I}_6)$; CD-Schmelzkurven c) von $\text{ddGlc}({}^7\text{CHG}_6) \cdot \text{ddGlc}(\text{C}_6)$ und f) von $\text{ddGlc}({}^7\text{CHG}_6) \cdot \text{ddGlc}(\text{I}_6)$. Alle Messungen 0,15M NaCl, 0,01M Tris · HCl, pH 7,0*).

*) In contrast to *RH* self-pairing of G in $\text{ddGlc}({}^7\text{CHG}_6)$ (see Fig. 26), its *WC* pairing with $\text{ddGlc}(\text{C}_6)$ is normal (a, b, and c). The data for its pairing with $\text{ddGlc}(\text{I}_6)$ (d, e, and f) show that this also must be *WC*.

Xanthin als Paarungspartner verlangt infolge der relativ hohen Azidität seiner Imid-Gruppierung besondere Aufmerksamkeit. In Übereinstimmung mit dem in der Literatur für Xanthosin beschriebenen *pK*-Wert von ca. 5,5 [24][25]¹³⁾ liegt der für das Xanthin-

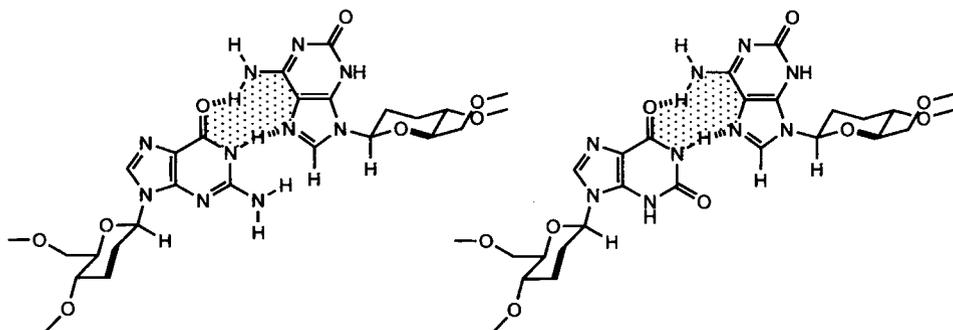


Fig. 28. Nicht beobachtete Paarungsmodi der (G/I)- und der (X/I)-Paarung*)

*) The remote possibility exists that the pairing between ddGlc(G₆) and ddGlc(I₆) would be *H*, with G employing the *WC* site and I adopting the *syn*-conformation (for antiparallel strand orientation; left-hand formula). If this were true, one would expect that ddGlc(X₆) and ddGlc(I₆) should form on isomorphous, comparably stable duplex (right-hand formula). This is not the case (see Sect. 3.6).

ddGlc-Nucleosid **6** (Fig. 5) UV-spektroskopisch (vgl. Fig. 31, *a* und *b*) abgeschätzte *pK*-Wert bei *ca.* 5,3 [9]. Die UV-Absorptionsspektren des Xanthin-Kerns in seiner Diketo-Form (bei pH 3; vgl. Fussnote 13) und in seiner (vermutlich an H–C(3)) deprotonierten Form (bei pH 9; vgl. Fussnote 13) unterscheiden sich derart deutlich (Fig. 31), dass der Vergleich der temperaturabhängigen UV-Spektren von ddGlc(X₆) bei pH 7 und pH 9 (Fig. 32, *c* und *d*) zu zeigen imstande ist, dass die Xanthin-Kerne dieses Oligonucleotids unter den Bedingungen der Basenpaarung mit ddGlc(D₆) bei pH 7 weitgehend deprotoniert sind. Wie der Vergleich von Fig. 32, *c*, mit Fig. 32, *a*, zeigt, ist die deutliche Veränderung des Absorptionsspektrums von ddGlc(X₆) mit steigender Temperatur bei pH 7 keinesfalls ein Indiz für Selbstpaarung des Hexamers, sondern die Spiegelung einer entsprechenden Temperaturabhängigkeit des (Protonierung-Deprotonierung)-Gleichgewichts in der (bezüglich ihres pH-Werts ebenfalls nicht temperatur-unabhängigen) Puffer-Lösung. Hiermit in Übereinstimmung steht der Vergleich mit den entsprechenden UV-spektroskopischen Daten bei pH 9 (Fig. 32, *d* und *b*): hier bleiben die Lagen der Absorptionsmaxima weitgehend an Ort, und der Abfall der Extinktion mit steigender Temperatur ist viel geringer. Die Temperaturabhängigkeit der UV-Kurven von ddGlc(X₆) ist vom linearen und nicht sigmaoiden Typ; dass dieses Hexamere keiner Selbstpaarung unterliegt, belegt übrigens auch das von der Temperatur wenig abhängige CD-Spektrum (Fig. 32).

Die Vorstellung, wonach Xanthin in weitgehend deprotonierter Form die Paarung mit 2,6-Diaminopurin eingehe, wird durch Paarungsexperimente bei pH 9 gestützt: die Selbstpaarungs-*T_m*-Werte von ddGlc(X-X-X-D-D-D) und ddGlc(X-D-X-D-X-D) sind bei diesem pH-Wert nur wenig tiefer als jene bei pH 7 (Fig. 30, *b*, und Tab. 7).

Unter den in dieser Arbeit verwendeten Bedingungen der UV-spektroskopischen Ermittlung der Schmelztemperaturen von homo-DNS-Duplexen sind die Partner-Stränge normalerweise chemisch stabil (Nachweis HPL-chromatographisch), nicht so z. B. das Xanthin-haltige Oligonucleotid ddGlc(X₆). Dieses zersetzt sich während eines üblichen Messvorgangs bei pH 7 (Aufheizrate 0,5°/min, Abkühlrate 1°/min, Dauer *ca.* 5 h) zu

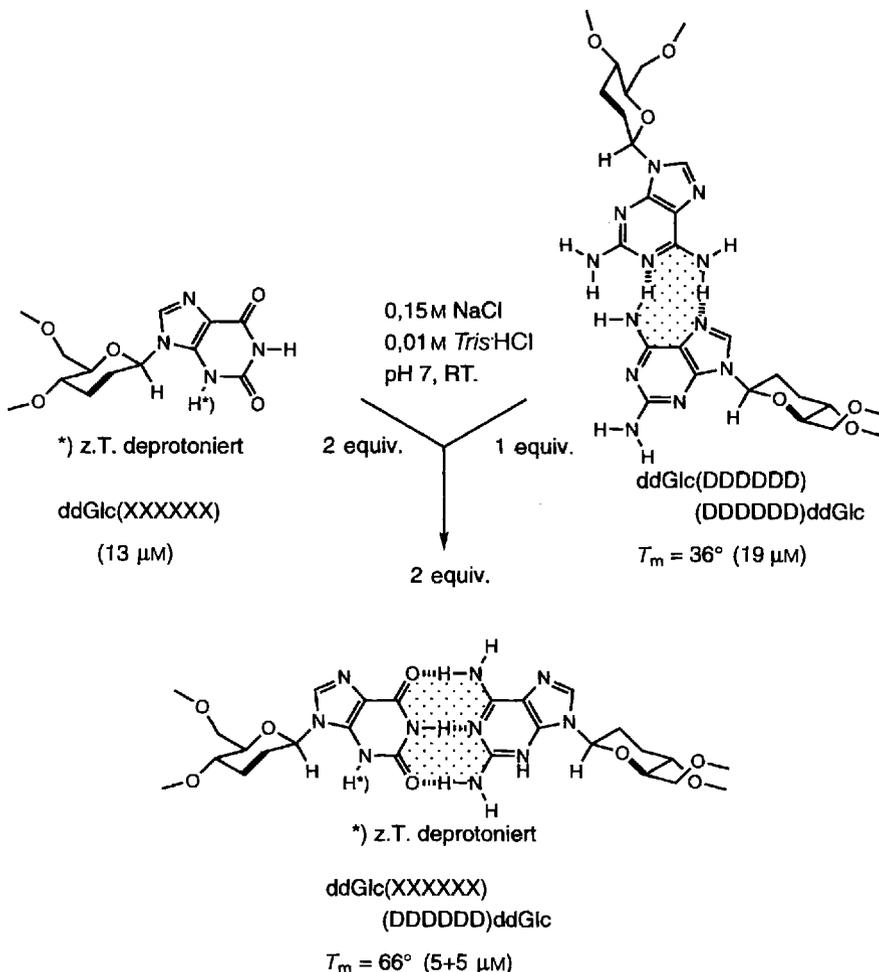


Fig. 29. Watson-Crick-Paarung von ddGlc(X_6) mit ddGlc(D_6)*)

*) Equivalent amounts of the self-paired 1:1 duplex of ddGlc(D_6) and the single strand ddGlc(X_6) form a stable 1:1 D-X duplex, constitutionally analogous to the G-I duplex of Fig. 23. The assignment of the WC mode rests on this analogy and on the data of Fig. 30.

ca. 10%, überlebt jedoch bei pH 9 einen Messvorgang im wesentlichen unverändert. Messungen bei pH 7 mit Xanthin-haltigen Oligonucleotiden wurden deshalb mit Aufheizrate von 1°/min durchgeführt und die Messproben anschliessend HPL-chromatographisch geprüft. Nur die Ergebnisse von Experimenten mit nachgewiesenermassen unverändertem Messgut sind hier für die Diskussion der Paarungseigenschaften verwendet [9]. Generell sind Xanthin-haltige Nucleotid-Derivate in der homo-DNS-Reihe gegenüber Depurinisierung empfindlicher als entsprechende Derivate der anderen Purin-Basen [9].

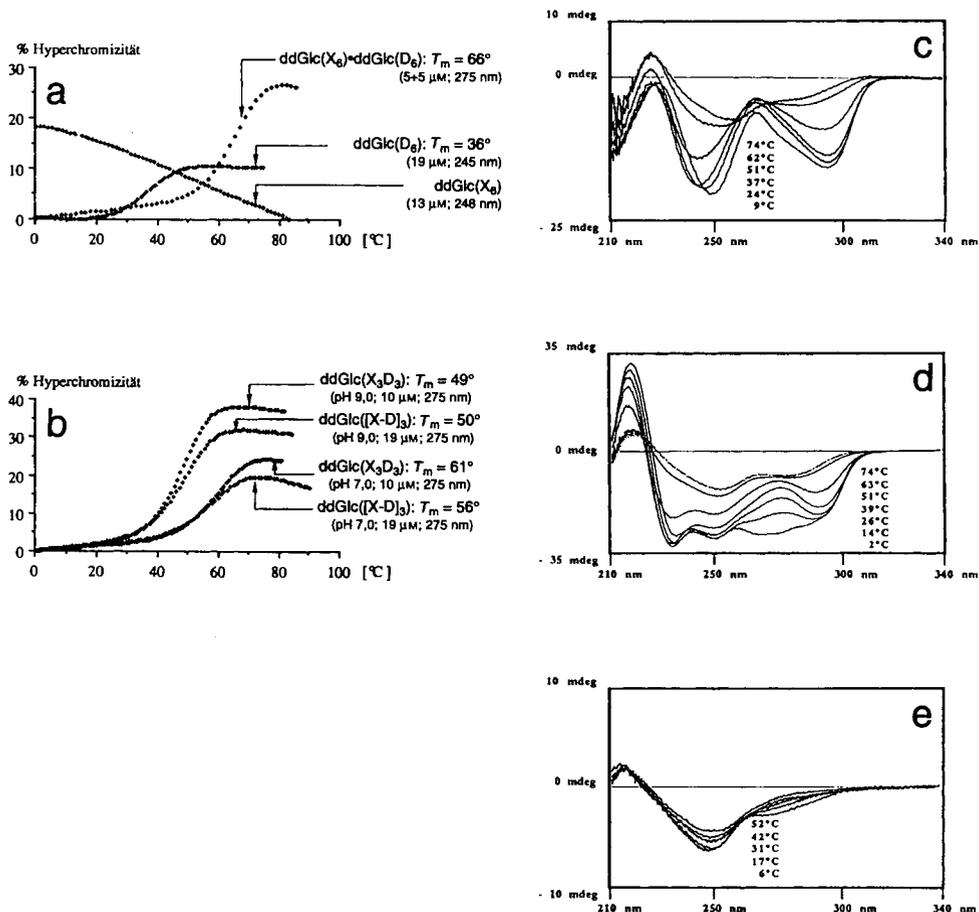


Fig. 30. a) Vergleich der Schmelzkurve des (1:1)-Gemisches von ddGlc(X₆) und ddGlc(D₆) mit den Schmelzkurven von ddGlc(X₆) und ddGlc(D₆) (0,15M NaCl, 0,01M Tris · HCl, pH 7,0); b) Schmelzkurven von ddGlc(X₃D₃) und ddGlc([X-D]₃) bei pH 7,0 und 9,0; temperaturabhängige CD-Spektren c) von ddGlc(X₃D₃) (10 μM); d) von ddGlc([X-D]₃) (19 μM) und e) von ddGlc(X₆) (13 μM). Alle Messungen 0,15M NaCl, 0,01M Tris · HCl, pH 7,0*).

*) T_m Curves and CD spectra of duplexes of ddGlc hexamers containing D and X. a) T_m Curve of ddGlc(D₆) · ddGlc(X₆) compared to curves of ddGlc(X₆) single strand and of self-pairing duplex of ddGlc(D₆). b) T_m Values of duplex derived from self-complementary X- and D-containing hexamer sequences determined at two different pH value. c) CD Spectra of D₆-X₆ duplex. d) CD Spectra of (XD)₃ duplex. e) Temperature-dependence of CD spectrum of ddGlc(X₆). The quasi-linearity of the temperature-dependence of the UV extinction (248 nm) of ddGlc(X₆) (see a) and the relatively small temperature dependence in the CD spectrum of this hexamer indicate that it, in contrast to the A, I, G, and D hexamers, does not engage in purine-purine self-pairing.

3.5. Die (unerwartet starke) Paarung von ddGlc[(6-Amino-2-(benzyloxy)purin)₆] mit ddGlc(G₆). Wie in den Kap. 2.2 und 2.5 sowie in den Fig. 5 (Formel 11), Fig. 7 (Formel 20) und Fig. 9 (Formel 31) angezeigt, hatten wir für die Synthese der Isoguanin-haltigen homo-DNS-Oligonucleotide als Schutzgruppe der Carbonyl-Funktion anfänglich die

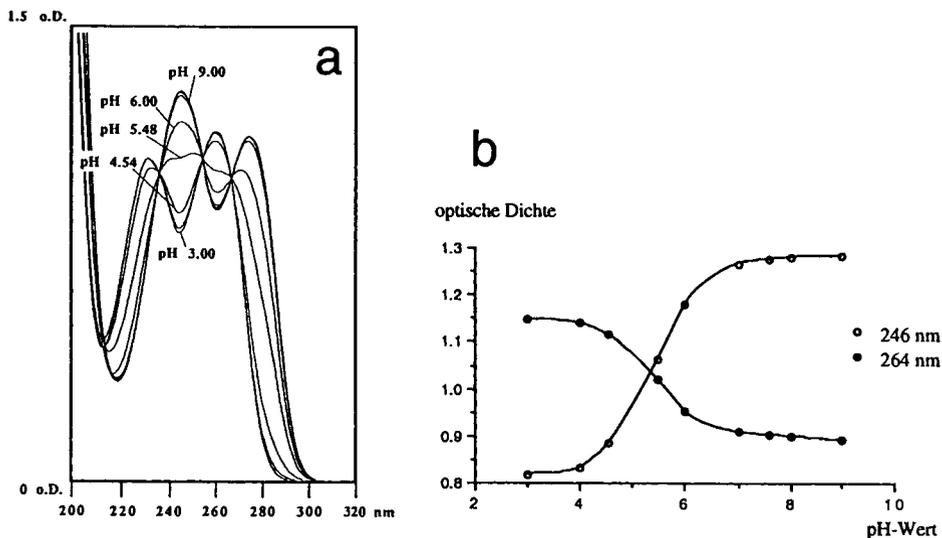


Fig. 31. a) UV-Spektren von ddGlc(X) (6; 113 μM) bei pH 3,0–9,0; b) Korrelation zwischen pH-Wert und optischer Dichte einer Lösung von ddGlc(X) (6; 113 μM)*

*) Deprotonation of xanthine in ddGlc-nucleotides. a) UV Spectra of ddGlc(X) (6; Fig. 5) in aqueous buffer solutions at pH 3–9 ($c = 0.113\text{M}$). b) Dependence of optical density of a 0.113 mM solution of 6 on pH at 246 and 264 nm, indicating a pK_A for 6 of 5.3. The reported¹³⁾ pK_A of xanthosine is 5.5. Deprotonation occurs at N(3) of the xanthine nucleus. The UV spectrum of xanthosine at pH 3 (similar to that of ddGlc(X); see a) corresponds to the diketo form of xanthine.

O-Benzyl-Gruppe vorgesehen, waren aber bei der Abspaltung der PhCH_2 -Gruppen aus dem hexameren Oligonucleotid ddGlc[(*O*-Benzyl-I)₆] (durch heterogen-katalytische Hydrierung mit Pd/C im Anschluss an die Entfernung der Amino- sowie Phosphodiester-Schutzgruppen) auf Schwierigkeiten gestossen, die uns in der Folge veranlassten, anstelle der PhCH_2 - die Allyl-Schutzgruppe zu verwenden. Die Schwierigkeiten (geringe Löslichkeit des erwähnten Hexameren in sowohl H_2O , als auch EtOH, verlustreiche Absorption des Materials an Glasoberflächen, Nicht-Reproduzierbarkeit der hydrogenolytischen Entschützung) haben uns indessen die unbeabsichtigte Beobachtung des bemerkenswerten Paarungsverhaltens von ddGlc[(*O*-Benzyl-I)₆] mit ddGlc(G₆) beschert⁴⁴⁾. Dessen nähere Charakterisierung wurde an den selbstkomplementären Sequenzen ddGlc[(*O*-Benzyl-I)₃-G-G-G] und ddGlc[(*O*-Benzyl-I)G]₃ durchgeführt, deren Handhabung im Gegensatz zum homopurinischen Hexameren keine Schwierigkeiten bereitete, und von welchen die erstere problemlos durch (heterogen) katalytische Hydrogenolyse in die entschützte Sequenz ddGlc(I-I-I-G-G-G) übergeführt und als solche charakterisiert wurde.

⁴⁴⁾ Bei der Wiederholung eines UV-spektroskopisch erfolgreich gewesenen Vorversuches der Hydrogenolyse ddGlc[(*O*-Benzyl-I)₆] → ddGlc(I₆) in Gegenwart von 10proz. Pd/C in $\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH}$ 1:1 gelangte die Produktprobe als vermeintliches ddGlc(I₆) zu einem Paarungsexperiment mit ddGlc(G₆), wobei man einen T_m -Wert von über 70° feststellte: die besagte Produktprobe erwies sich nachträglich als nicht-entschütztes ddGlc[(*O*-Benzyl-I)₆].

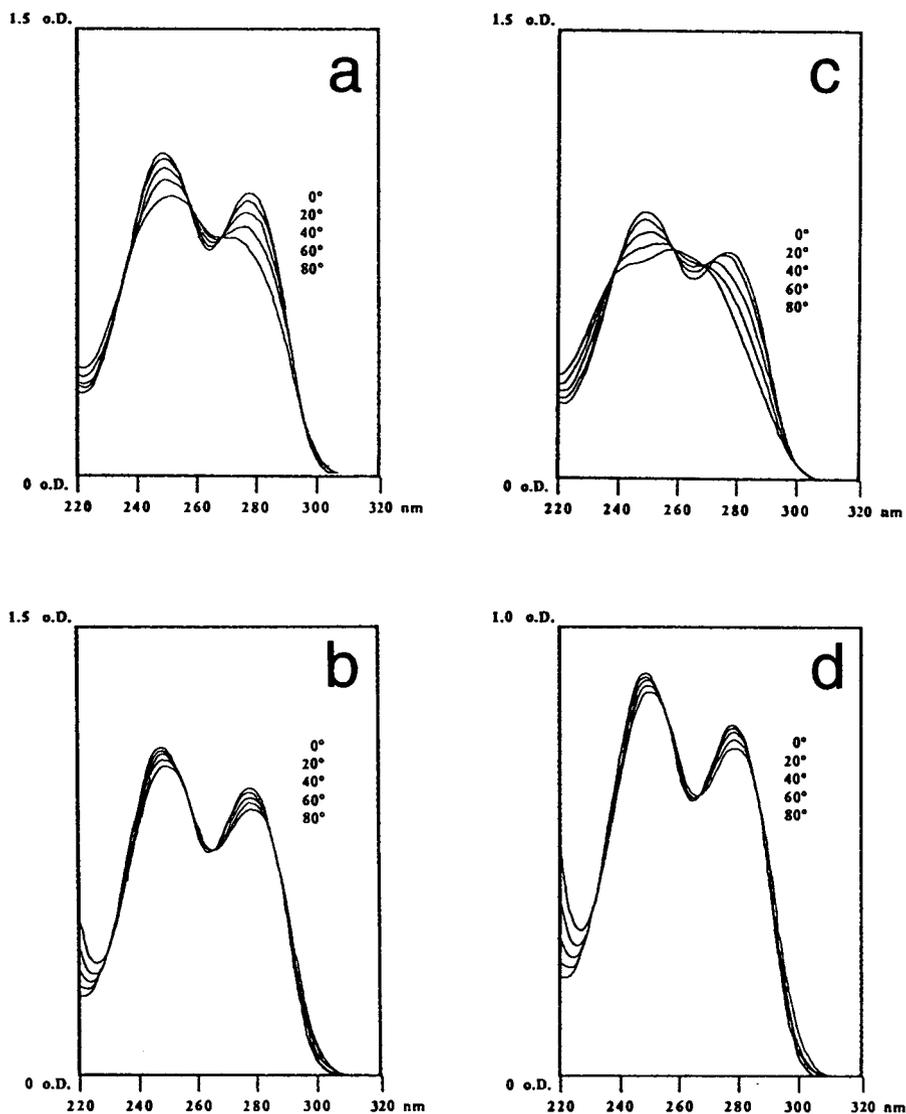


Fig. 32. Temperaturabhängige UV-Spektren von $ddGlc(X)$ ($6; 96 \mu M$) bei a) pH 7,0 und b) pH 9,0 sowie von $ddGlc(X_6)$ ($13 \mu M$) bei c) pH 7,0 und d) pH 9,0. Alle Messungen $0,15M NaCl, 0,01M Tris \cdot HCl^*$.

*) Temperature dependence of UV spectra of $ddGlc(X)$ at pH 7 (a) and 9 (b), and of $ddGlc(X_6)$ at pH 7 (c) and 9 (d). The pronounced differences in temperature dependence of the spectra at pH 7 and 9 and the similar patterns for $ddGlc(X)$ and $ddGlc(X_6)$ indicate that the xanthine nuclei in $ddGlc(X_6)$ are largely deprotonated at pH 9, and that the changes in the UV spectrum of $ddGlc(X_6)$ with rising temperature do not reflect denaturation of a self-pairing complex (see also Fig. 30), but rather a change in deprotonation equilibria. T_m Values of the duplexes of $ddGlc(X-X-X-D-D-D)$ and $ddGlc(X-D-X-D-X-D)$ at pH 9 (see Fig. 30) are slightly lower than at pH 7, indicating that deprotonation of X at N(3) does not interfere seriously with H-bonding to D.

Tab. 7. Daten von (Purin-Purin)-gepaarten Duplexen des Watson-Crick-Typs (gleiche Messbedingungen wie in Tab. 6, pH-Ausnahmen speziell vermerkt)

(Purin-Purin)-Duplex	T_m [°C] (Konzentration)	Hyperchromizität (Detektionswellenlänge)	postulierter Paarungsmodus
- GGGGGG I I I I I I - [9]	61° (9 + 9 μ M)	-27% (265 nm)	WC (Fig. 23)
- I I I GGG GGG I I I - [9]	57° (17 μ M)	-20% (260 nm)	WC (Fig. 23)
- I I G I G G G G I G I I - [10] [11]	55° (13 μ M)	-22% (270 nm)	WC (Fig. 23)
- G G I G I I I I G I G G - [10]	54° (20 μ M)		WC (Fig. 23)
- I G I G I G G I G I G I - [11]	55° (22 μ M)	-20% (270 nm)	WC (Fig. 23)
- G I G I G I I G I G I G - [10] [11]	50° (23 μ M)	-26% (265 nm)	WC (Fig. 23)
- D D D D D D X X X X X X - [9]	66° (5 + 5 μ M) (56° bei pH 9)	27% (275 nm)	WC (Fig. 29)
- X X X D D D D D D X X X - [9]	61° (10 μ M) (49° bei pH 9)	25% (275 nm) (38%)	WC (Fig. 29)
- X D X D X D D X D X D X - [9]	56° (19 μ M) (48° bei pH 9)	20% (275 nm) (31%)	WC (Fig. 29)
- X X X X X X [9]	- (13 μ M)	^{a)}	-

^{a)} Linearer Abfall der Extinktion bei 248 nm bei Erhöhung der Temperatur.

Fig. 33 zeigt die unter gleichen Bedingungen UV-spektroskopisch ermittelten (reversiblen) Schmelzkurven der selbstkomplementären Sequenzen ddGlc(I-I-I-G-G-G) und ddGlc(I-G-I-G-I-G) im Vergleich zu den entsprechenden, durch PhCH₂-Gruppen geschützten Derivaten. In beiden Fällen liegt die Schmelztemperatur des PhCH-geschützten Derivats um (mindestens) 10° höher. Die Ähnlichkeit des Kurventyps in den temperaturabhängigen CD-Spektren (vgl. Fig. 34 und 25) spricht mit Nachdruck für die aus konstitutionellen Gründen sich aufdrängende Vorstellung, dass es sich in beiden Reihen um einen analogen Paarungstyp handelt; er ist in Fig. 35 durch die Formelbilder **a**, **b** und **c** wiedergegeben.

Dass ein nicht-bindendes Elektronenpaar am O-Zentrum einer O-alkylierten Lactam-Gruppierung sich in einer WC-Paarung ähnlich effizient verhalten soll wie das entsprechende Carbonyl-Elektronenpaar der freien Lactam-Gruppe, hat uns zwar überrascht, ist aber bei näherem Zusehen vielleicht doch nicht unplausibel. In beiden Fällen liegt das in der H-Brücke engagierte Elektronenpaar orthogonal zum π -Konjugationssystem, wodurch dessen π -Konjugation in erster Näherung durch die H-Verbrückung weder im einen, noch im anderen Fall gestört wird. Die Art der Beteiligung der beiden Elektronenpaare an einer stabilisierenden (und demzufolge die Nucleophile des Elektronenpaares dämpfenden) ($n \rightarrow \sigma^*$)-Konjugation ist in beiden Fällen ebenfalls die gleiche.

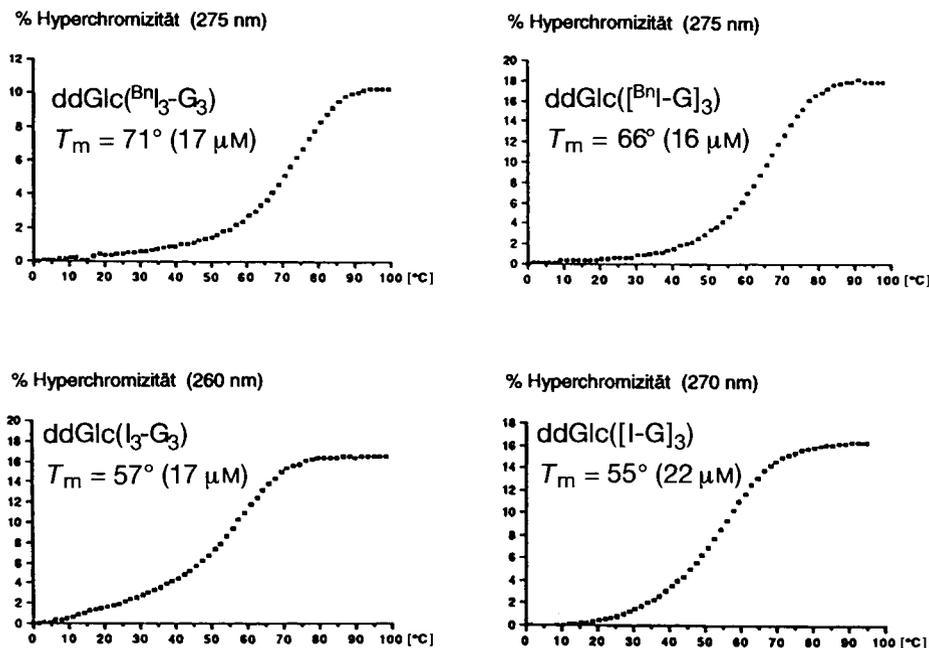


Fig. 33. Vergleich der Schmelzkurven von $ddGlc(BnI_3-G_3)$ und $ddGlc([BnI-G]_3)$ mit jenen von $ddGlc(I_3-G_3)$ und $ddGlc([I-G]_3)$. Alle Messungen 0,15M NaCl, 0,01M Tris · HCl, pH 7,0*).

*) Base pairing between $ddGlc(G)$ and $ddGlc(Benzyl-O-I)$ (= BnI) is stronger (according to T_m) than pairing between the fully deprotected groups. The phenomenon is documented by UV melting curves for two self-complementary sequences.

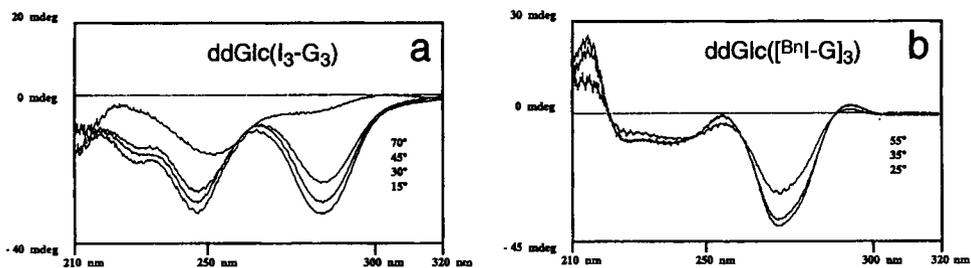


Fig. 34. Temperaturabhängige CD-Spektren von a) $ddGlc(I_3-G_3)$ und b) $ddGlc([BnI-G]_3)$. Alle Messungen 0,15M NaCl, 0,01M Tris · HCl, pH 7,0*).

*) CD Spectra of $ddGlc([BnI-G]_3)$ (a) and $ddGlc(I_3-G_3)$ (b).

Kritisch ist die Frage, inwieweit die Konformation der Bn-Gruppierung einem sp^2 - oder sp^3 -hybridisierten O-Zentrum entspricht; die letztere Version (Formelbild c) dürfte sterisch günstiger sein und würde die Ph-Gruppe in eine Ebene legen, welche von jener des Isoguanin-Kerns verschieden, aber dazu parallel angeordnet ist. Ob dadurch bedingte Stapelungseffekte ein Mitgrund für die gegenüber der Normpaarung (Formelbild b) erhöhte Duplex-Stabilität sind, kann hier nicht entschieden werden, da wir keine zusätz-

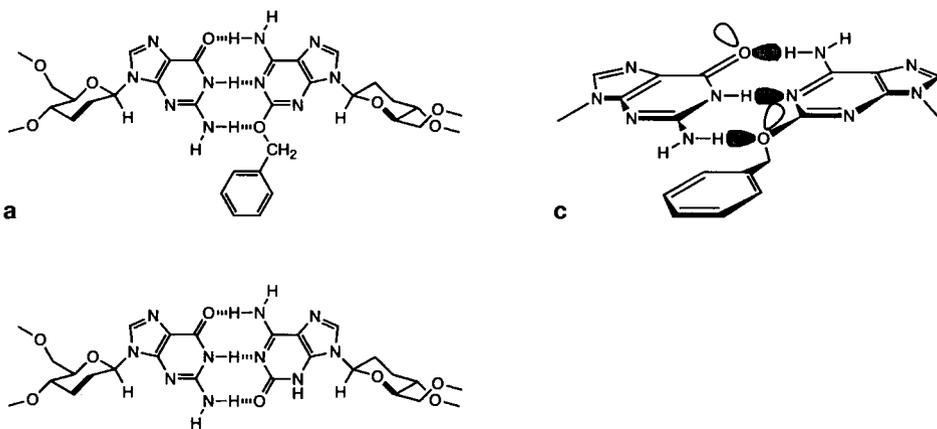


Fig. 35. Hypothetische Zuordnung des Paarungsmodus für die Paarung zwischen Guanin und 2-O-Benzylisoguanin*)

- *) Hypothetical constitutional assignment of G-(O-benzyl-I) pairing. Most probably, the pairing mode is WC (a), in direct analogy to the G-I WC pair (b). The in-plane lone pair of the benzyl imino-ether O-atom would take over the function of the in-plane lone pair of the lactam C=O. It could be argued that H-bonding to the ether O-atom shifts the hybridization of the latter toward sp^3 , with the stereochemical consequence that the PhCH_2 group moves out of the purine plane; this would create a possible source for additional duplex stability through benzyl ring stacking in adjacent G-(O-benzyl-I) pairs. On the other hand, the stability increase simply might be a result of the hydrophobicity of the PhCH_2 group.

lichen experimentellen Daten beschafft haben, und die Möglichkeit auf der Hand liegt, dass es sich in der Erhöhung der Duplex-Stabilität um einen Hydrophobie-Effekt handeln könnte. Jedenfalls dürfte der empirische Befund dieser Art von Paarungsverstärkung ein über das vorliegende Beispiel hinausgehendes Interesse beanspruchen⁴⁵⁾.

3.6. Übersicht über die in der homo-DNS-Reihe beobachteten (Purin-Purin)-Paarungen. Da es sich im Laufe der Untersuchungen gezeigt hat, dass die homo-DNS ein weitaus reicheres Potential an (Purin-Purin)-Basenpaarungen aufweist als die natürliche DNS, haben wir die Gesamtheit der möglichen (Purin-Purin)-Kombinationen an geeigneten ddGlc-Hexameren auf ihre Paarungsfähigkeit hin überprüft. Die dabei gemachten Beobachtungen und vorgenommenen Zuordnungen sind zusammen mit den bereits besprochenen Befunden in Tab. 8 zusammengestellt. Fig. 36 gibt eine Übersicht über das Paarungsvermögen der insgesamt sechs in die Untersuchung miteinbezogenen Purine in Form von repräsentativen T_m -Werten, die alle möglichen (Purin-Purin)-Kombinationen betreffen, und die, relativ zueinander beurteilt, das Paarungsverhalten dieser Purine in der homo-DNS-Reihe charakterisieren. Die meisten dieser Werte sind an antiparallel-selbstkomplementären Hexamer-Sequenzen des Typs ddGlc(BBBBBB)⁴⁶⁾ (in einem Fall an

⁴⁵⁾ Vgl. den Versuch einer Nutzung dieser Beobachtung in einer neulich erschienenen Arbeit von Fraser und Mitarbeitern [75].

⁴⁶⁾ In einer solchen Sequenz von zwei unterschiedlichen Purin-Basen B und **B** könnten bei antiparalleler Strang-Orientierung B und **B** höchstens je zwei BB- bzw. **BB**-Paare bilden gegenüber sechs Paaren des Typs **BB**. Zumindest wenn B für eine nicht-selbstpaarende Base steht (z. B. X und H), ist die Beobachtung einer Paarung der Sequenz ddGlc(BBBBBB) als eine solche von sechs Paaren **BB** zu interpretieren.

Tab. 8. Daten von Duplexen mit schwacher Paarung

(Purin-Purin)-Duplex	T_m [°C] (Konzentration)	Hyperchromizität (Detektionswellenlänge)	vermuteter Paarungsmodus
- HHHHHH [12] [3]	- ^{a)} (14 μM)	- (250 nm)	
- AAHAHH [12]	< 7° (9 μM)	> 4% (255 nm)	WC (Fig. 38,a)
- DDHDHH [12]	< 5° (10 μM)	> 3% (250 nm)	
- XXHXHH [12]	- ^{a)} (7 μM)	- (265 nm)	
- I I H I H H [12]	12° (11 μM)	11% (300 nm)	WC (Fig. 38,d)
- GGGHHH [12]	< 15° (10 μM)	> 4% (250 nm)	RH (Fig. 39,d)
- DDGDGG [9]	< 15° (18 μM)	> 11% (255 nm)	
- XXAXAA [9]	< 13° (17 μM)	> 8% (257 nm)	WC (Fig. 38,c)
- XXXGGG [9]	17° (21 μM)	9% (275 nm)	RH (Fig. 39,c)
- XXGXGG [9]	18° (18 μM)	11% (275 nm)	RH (Fig. 39,c)
- GGXGXX [9]	19° (19 μM)	13% (275 nm)	RH (Fig. 39,c)
- XGXGXX [9]	19° (22 μM)	18% (275 nm)	RH (Fig. 39,c)
- I I X I X X [9]	16° (19 μM)	12% (295 nm)	RH (Fig. 39,a and b)
- AAGAGG [10]	< 15° (8 μM)	> 6% (260 nm)	^{b)}
- GGAGAA [10]	< 10° (8 μM)	> 4% (260 nm)	^{c)}

^{a)} Linearer Anstieg der Extinktion bei Erhöhung der Temperatur. ^{b)} Vermutlich RH (G/G). ^{c)} Vermutlich RH (A/A); vgl. Fig. 21

ddGlc(BBBBBB)) unter Standardbedingungen (c = zwischen 10 und 20 μM , 0,15M NaCl, 0,01M *Tris* · HCl, pH 7) bestimmt, bei nicht-selbstkomplementären Sequenzen erfolgte die Bestimmung an (1:1)-Gemischen von Hexameren des Typs ddGlc(BBBBBB) und ddGlc(BBBBBB), und schliesslich an Hexameren des Typs ddGlc(BBBBBB) die Charakterisierung der (Purin-Purin)-Selbstpaarung. Die Identifizierung der jeweiligen Mess-Sequenz für eine in Fig. 36 aufgeführte Schmelztemperatur ist mit Hilfe der Tab. 8 möglich.

Im gegenseitigen Paarungsverhalten der Purine in der homo-DNS-Reihe lassen sich grob vier Gruppierungen ausmachen:

1) Die Gruppe der (Purin-Purin)-Kombinationen, die (im zugänglichen Messbereich und unter den verwendeten Mess-Bedingungen) UV- und CD-spektroskopisch keinerlei Paarung zeigen; es sind dies die Kombinationen H/H, X/H und X/X.

2) Die Gruppe jener Kombinationen, bei denen deutlich ein Paarungspotential festgestellt wird, wobei aber die Paarung jeweils so schwach ist ($T_m < 20^\circ$), dass wir sie im Vergleich zur Paarungsstärke der echten Paarungskombinationen (vgl. unten) als 'Hintergrund-Paarung' (Paarungs-'noise') einstufen. Es betrifft dies die Kombinationen H/A, D/H, X/A, I/H, I/X, G/A⁴⁷⁾, G/H, G/D⁴⁷⁾, und G/X.

3) Die Gruppe der RH-Paarungskombinationen A/A, D/A, D/D, I/A, I/D, I/I und G/G. Ihre Paarungsstärke äussert sich in einer (Hexamer)-Schmelztemperatur von durchschnittlich 40° (vgl. Kap. 3.3).

⁴⁷⁾ Ein T_m -Wert für eine (vermutlich existierende) (A/G)-Paarung sowie eine (vermutlich nicht existierende) (G/D)-Paarung kann deshalb nicht angegeben werden, weil bei den Mess-Sequenzen (ddGlc(AAGAGG) und ddGlc(GGAGAA) [10] (S. 112–131) sowie ddGlc(DDGDGG) (vgl. Tab. 8) die RH-Selbstpaarung der beteiligten Purin-Basen dominiert.

	A	H	D	X	I	G
A	47					
H	< 7	—				
D	42	< 5	36			
X	< 13	—	66	—		
I	43	12	39	16	42	
G	*	< 15	*	19	61	38

um 60° Watson-Crick-Paarung (3-zählig)

um 40° Reverse-Hoogsteen-Paarung (2-zählig)

< 20° Hintergrund-Paarung
(WC 2-zählig oder RH)

— keine Paarung

* Paarung nicht beobachtbar
(wenn vorhanden, dann $T_m < 15^\circ$)⁴⁷⁾

Fig. 36. Übersicht über die relative Stärke der (Purin-Purin)-Paarungen in der homo-DNS-Reihe. T_m -Werte von ddGlc-Hexameren, $c = 10-20 \mu\text{M}$, $0,15\text{M NaCl}$, $0,01\text{M Tris} \cdot \text{HCl}$, pH 7,0; bei den zum Vergleich gelangten Hexameren handelt es sich um folgende Sequenzmotive: ddGlc BBBB BB für A/A, H/H, D/D, X/X, I/I, G/G; ddGlc-(BBBBBB) für H/A, D/A, D/H, X/A, X/H, I/A, I/H, I/D, I/X, G/D, G/X; ddGlc BBBB BB für G/H; ddGlc-(BBBBBB) + ddGlc-(BBBBBB) für X/D, G/I*).

) Overview of purine-purine pairing in the homo-DNA series: T_m values determined under standard conditions of duplexes of self-complementary ddGlc hexamers or (in two cases) 1:1 mixtures of complementary hexamers (see Table 8). Roughly four groups of purine-purine pairing behavior can be distinguished. 1) Combinations which do not show any discernible pairing under these conditions (H/H, X/H, X/X). 2) Combinations for which the observed pairing is so weak ($T_m < 20^\circ$) that it qualifies as 'pairing noise' (H/A, D/H, X/A, I/A, G/A, G/H, G/D*, G/X; * = conjectured, since not directly observed because of self-pairing). 3) RH Group showing (didentate) pairing of medium strength (T_m around 40° ; A/A, D/A, D/D, I/A, I/D, I/I, G/G; see Sect. 3.3). 4) WC Group showing (tridentate) pairing of maximum strength (T_m around 60° ; G/I and X/D; Sect. 3.4). For documentation of experimental data for noise-pairings, see [9] (p. 142–152) and [12] (p. 40–70).

4) Die Gruppe der WC-Paarungskombinationen X/D und G/I, die eine Schmelztemperatur um 60° aufweisen (vgl. Kap. 3.4).

Selbstverständlich ist eine solche Aufteilung aller möglichen (Purin-Purin)-Paarungskombinationen in vier Gruppen auf Grund einer zwar repräsentativen, aber doch unter Verzicht auf Berücksichtigung der Sequenzabhängigkeit der Basenpaarung vorgenommenen Auswahl von T_m -Werten mit entsprechendem Vorbehalt zu beurteilen. Die Aufteilung rechtfertigt sich indessen zum Zwecke einer raschen Übersicht dadurch, dass sie eine

Strukturierung des Paarungsverhaltens der insgesamt 21 (Purin-Purin)-Kombinationen aufdeckt, die mit den Paarungsprognosen, welche sich aus einer konstitutionellen Analyse der Basen-Kombinationen unter Berücksichtigung der topologischen Einschränkungen ergeben, sehr schön übereinstimmt.

Die Konstitutionszuordnungen für die Paarungen innerhalb der *RH*- und der *WC*-Gruppe sind Gegenstand der *Kap. 3.3* und *3.4*. Was hier noch ansteht, sind Kommentare zur Frage nach den in der Gruppe der ‘Hintergrund-Paarungen’ auftretenden Paarungsmodi. Wir verzichten hier auf die Wiedergabe der UV-spektroskopisch bestimmten Schmelzkurven und temperaturabhängigen CD-Spektren, welche der Registration dieser schwachen Paarungen in *Tab. 8* und *Fig. 36* zugrunde liegen, und verweisen auf die Dokumentation dieser Daten in den (im Druck erschienenen) Dissertationen von *K. Groebke* [9] (S. 142–152) und *U. Diederichsen* [12] (S. 40–70). Über die Bestimmung dieser Daten hinausgehende experimentelle Untersuchungen zur Frage nach dem Modus dieser schwachen Paarungen haben wir nicht durchgeführt; somit beruhen die in den *Fig. 37* und *38* aufgeführten Konstitution-Zuordnungen nebst CD-spektroskopischen Vergleichen zur Hauptsache auf konstitutioneller Plausibilität, unter Berücksichtigung sterischer Faktoren sowie der in *Tab. 4* aufgeführten topologischen Einschränkungen.

Im Teil III dieser Reihe haben wir CD- und ¹H-NMR-spektroskopisch belegt, dass die (schwache) (H/A)-Paarung in jenen Sequenzen, in denen sie nicht durch die (stärkere) A-Selbstpaarung verdrängt wird, nach dem (zweizähligen) *WC*-Modus erfolgt

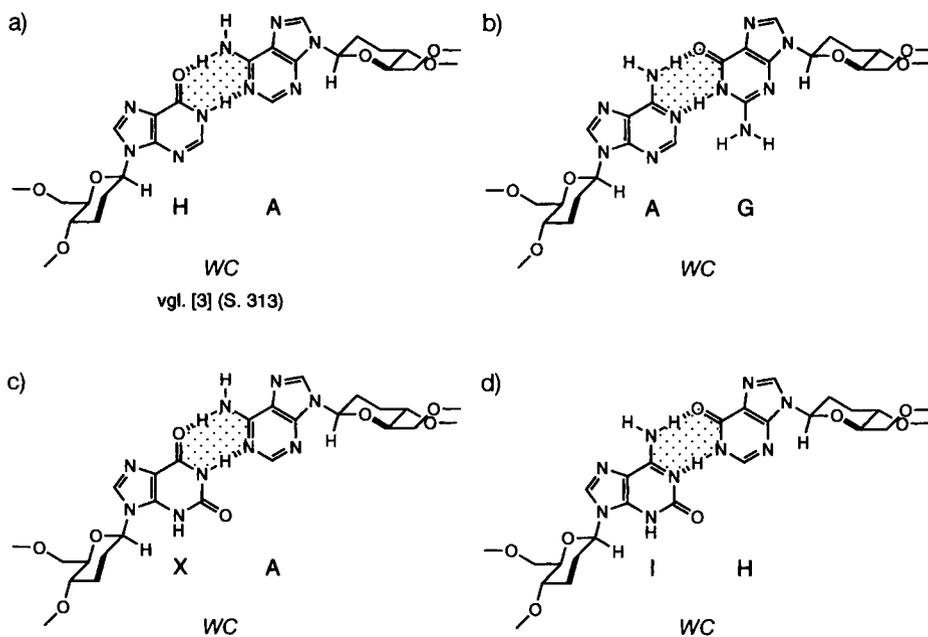


Fig. 37. Schwache (Purin-Purin)-Paarungen: vermutete Paarungsmodi des Watson-Crick-Typs*)

*) Tentative assignments of (didentate) *WC* modes to weak purine-purine pairings ('pairing noise'). For H/A pairing, see also [3].

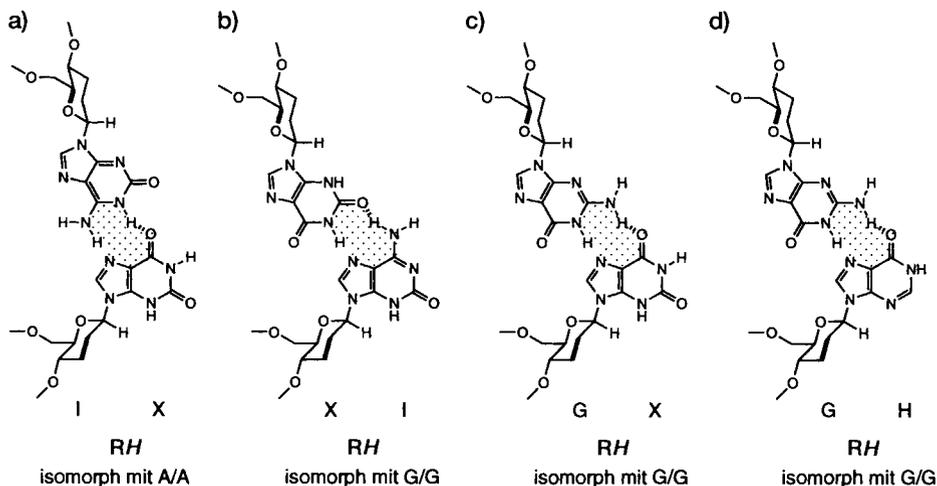


Fig. 38. Schwache (Purin-Purin)-Paarungen: vermutete Paarungsmodi des Hoogsteen-Typs*)

*) Tentative assignments of RH modes to weak purine-purine pairings ('pairing noise').

(Fig. 37,a). Nach dem CD-Spektrum von ddGlc(AAHAAH), das nicht jenem von ddGlc(AAAAAA) entspricht [12], ist für diese Mess-Sequenz ebenfalls der WC-Modus anzunehmen. Eine vermutlich existierende, aber infolge der Selbstpaarungs-Dominanz von A und G bislang nicht direkt beobachtete (schwache) (A/G)-Paarung (Fig. 37,b) [3]⁴⁷⁾ würde wohl dem gleichen WC-Modus zugehören. Dies gilt auch für eine (auf Grund des T_m -Wertes von ddGlc(DDHDHH)) sehr schwache (D/H)-Paarung [12]⁴⁸⁾. Klar verschieden vom CD-Spektrum von ddGlc(AAAAAA) sind die Spektren der Sequenzen ddGlc(XXAXAA) [9] und ddGlc(IIHIIHH) [12]; demnach sind für die (X/A)- sowie die (X/H)-Paarung wiederum der WC-Modus (Fig. 37,c und d) zu vermuten. Die Alternative hierzu wäre ein RH-Modus, in welchem die WC-Flanke des Xanthins mit der H-Flanke des Adenins (analog Fig. 38,b), bzw. die WC-Flanke des Isoguanins (1H-Tautomer) mit der H-Flanke des Hypoxanthins (analog Fig. 38,a) paaren würden. Das CD-Spektrum von ddGlc(XXIXII) ist dem Spektrum von ddGlc(GGGGGG) sehr ähnlich [9]; daher würde man von den beiden möglichen RH-Varianten der (I/X)-Paarung (Fig. 38,a und b) jener den Vorzug geben wollen, welche zur (G/G)-Paarung (Fig. 26) isomorph ist (Fig. 38,b). Auch wenn der T_m -Wert von ddGlc(XXIXII) um rund 20° tiefer liegt als der des G-Selbstpaarungskomplexes, ist damit die Zuordnung nicht widerlegt, denn was bei pH 7 tatsächlich zur Beobachtung gelangen könnte, ist ein an den Xanthin-Kernen teilweise deprotonierter Hexamer-Duplex (vgl. Kap. 3.4). Analoges gilt für die Zuordnung des RH-Modus (Fig. 38,c) für die Sequenzen ddGlc(XXGXGG) und ddGlc(GGXGXX) [9]. Die konstitutionell und geometrisch analoge Zuordnung der (G/H)-Paarung schliesslich (Fig. 38,d) fusst, abgesehen von ihrer Plausibilität, auf UV- und CD-spektroskopischen Beobachtungen an der Sequenz-Serie ddGlc(G_n-H_n)

⁴⁸⁾ Ein Doppel-Hoogsteen-Paar des RH-Modus ist im Unterschied zum H-Modus nicht formulierbar; der letztere verlangt parallele Strang-Anordnung bei anti-Konformation beider Basen (Tab. 4).

($n = 3-6$) [12]; es ist anzunehmen, dass die Sequenzen $n = 3-5$ (G/H)-gepaart sind, die Sequenz ddGlc(G₆H₄) jedoch (G/G)-gepaart.

3.7. *Gibt es (Purin-Purin-Purin)-Triplexe in der homo-DNS-Reihe?* Gegen Ende unserer Untersuchungen über (Purin-Purin)-Paarungen war die Frage in den Vordergrund getreten, ob in der homo-DNS-Reihe sich (Purin-Purin-Purin)-Triplexe bilden können. Unmittelbarer Anlass hierzu war das Modell eines in der Natur nicht realisierten Typs der Replikation von Oligonucleotid-Basensequenzen gewesen (erstmal dargestellt in [6]). Es handelte sich um die Vorstellung von einer Replikation durch templatgesteuerte Oligonucleotid-Synthese, die sich von der bei den natürlichen Nucleinsäuren realisierten Replikationsstrategie dadurch unterschiede, dass die Sequenz-Information nicht am Einzelstrang, sondern am Doppelstrang, d. h. an der *H*-Flanke duplexgebundener Purin-Basen abgelesen würde. Dadurch könnte die vielleicht schwierigste Stufe eines nicht-enzymatischen Replikationsprozesses umgangen werden, nämlich die der Informationsübertragung voranzugehende Entpaarung (stark) gepaarter Doppelstränge. Das Konzept betraf die Vorstellung, dass in einem Hexopyranosyl-Oligonucleotid-System sich robuste *WC*-Duplexe durch (Purin-Purin)-Paarung bilden und die Purin-Basen (Guanin-Isoguanin) zusätzlich die Eigenschaft aufweisen würden, an ihrer *H*-Flanke durch Selbstpaarung nach dem *RH*-Modus sich selbst zu erkennen (Fig. 39). Primärprodukte einer solchen templatkontrollierten Oligonucleotid-Synthese an der *H*-Flanke wären (Purin-Purin-Purin)-Triplexe, deren Drittstränge bei beschränkter Temperatur-Erhöhung sich selektiv vom *WC*-Duplex abspalten und dann selbst zu (höher schmelzenden) *WC*-gepaarten Duplexen zusammentreten würden. Infolge der antiparallelen Strang-Orientierung bei der Übertragung der Sequenz-Information an der *H*-Flanke durch *RH*-Paarung würden diese neuen Duplexe aus komplementären *Retrosequenzen* bestehen. Eine Wiederholung des Vorganges

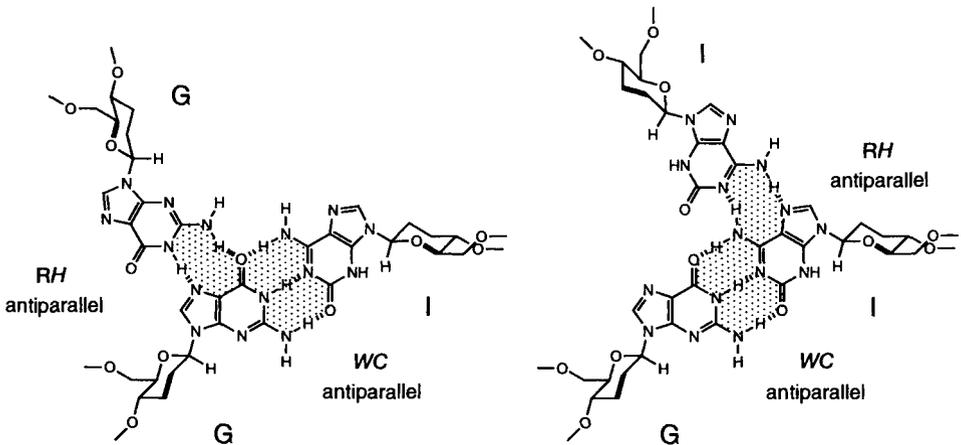


Fig. 39. Existieren (Purin-Purin-Purin)-Triplexe dieses Typs in der homo-DNS-Reihe*)

*) Inspired by a hypothetical oligonucleotide replication scheme [6] [78] (see Fig. 40 and Footnote 49), for which there appears to be no example in Nature, the question arose whether hitherto unknown purine-purine-purine triplexes with *RH*-*WC* base triplets would exist in the homo-DNA series.

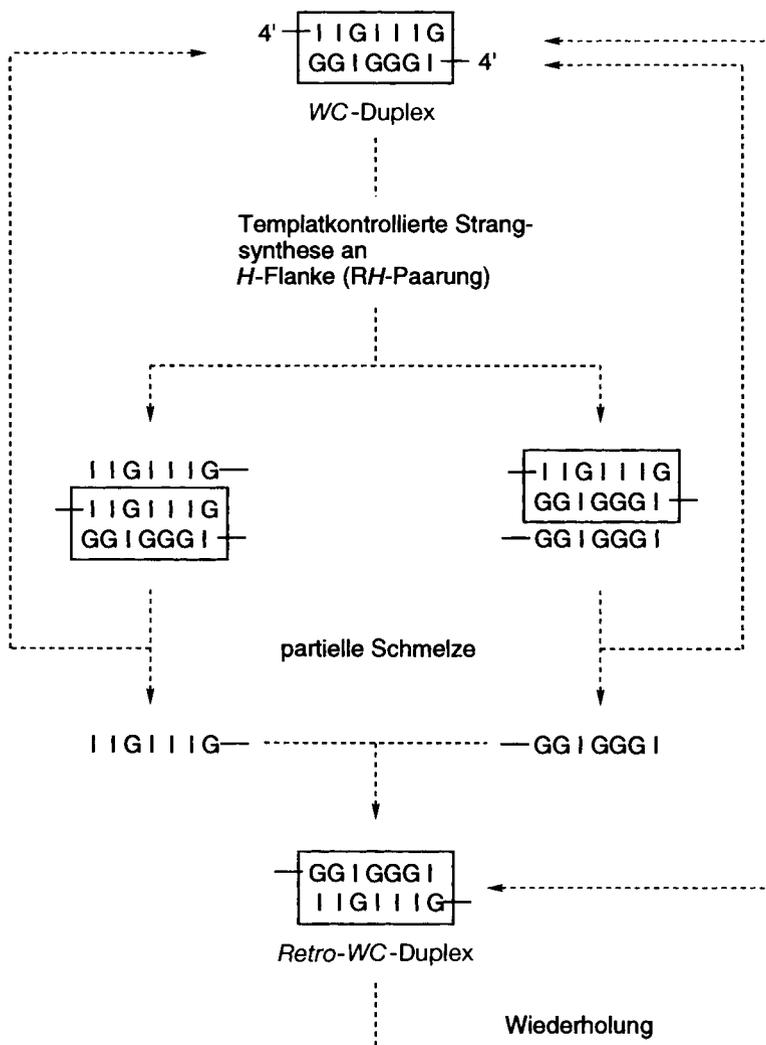


Fig. 40. Prinzip einer Replikation von homo-DNS-Sequenzen via (Purin-Purin-Purin)-Triplexe (hypothetisch)*)

*) Hypothetical replication scheme [6] in which reading of sequence information by RH pairing would occur at the H faces of the purines of a purine-purine WC duplex. Template-directed synthesis of oligonucleotide chains at both strands of a WC duplex would form two triplexes which, on partial denaturation, would produce the starting WC duplex again, in addition to the retro-version of that duplex. Repeating the process would give an additional equivalent of the starting duplex. The replication concept could to circumvent the problem of product inhibition (high stability of product duplex) in template-directed oligonucleotide synthesis.

würde den Kreis schliessen und zum ursprünglichen Duplex zurückführen (vgl. *Fig. 40*)⁴⁹).

Eine der Voraussetzungen für das Funktionieren eines Replikationscyclus solcher Art wäre eine cyclusgerechte Stabilität von (Purin-Purin-Purin)-Triplexen mit den in *Fig. 39* wiedergegebenen Paarungsmustern. Diese Frage haben wir experimentell für die in *Fig. 41* wiedergegebenen Triplete geprüft, und unsere Befunde sind die folgenden⁵⁰).

Mit den Methoden der UV-spektroskopischen Bestimmung der Schmelz- und Mischkurven sowie der Prüfung des gel-elektrophoretischen Verhaltens unter nicht-denaturierenden Bedingungen gelang es nicht, bei den in *Fig. 41* formulierten Kombinationen von homo-DNS-Sequenzen die Bildung eines (Purin-Purin-Purin)-Triplexes nachzuweisen. Die Beobachtungen, worauf diese Aussage beruht, finden sich in den (im Druck erschienenen) Dissertationen von *J. Hunziker* [10] (S. 197–199), und *K. Groebke* [9] (S. 160–169) dokumentiert. Die Mehrzahl der dabei beigebrachten Daten schliessen die Bildung der Triplete nicht aus, denn durch die Selbstpaarung der jeweiligen Drittstränge erwies sich vor allem das UV-spektroskopische Beobachtungsfenster für Triplete als sehr eingengt. So z. B. zeigen die Schmelz-Kurven für Gemische von ddGlc(I₆) und ddGlc(G₆) jeweils zwar eindeutig zwei sigmaoide Stufen (T_m 32° und 63° bei $c = 6$ und 12 μM , bzw. T_m 35° und 63° bei $c = 12$ und 6 μM), doch liegen die tieferen Werte nicht über jenen der entsprechenden Selbstpaarungsduplexe. Des weiteren erwies sich die sonst für den Nachweis von Triplexen wichtige Methode der UV-spektroskopischen Bestimmung der Mischkurve für das System ddGlc(G₆) · ddGlc(I₆) nicht allzu aussagekräftig. Bei 5° waren überhaupt keine interpretierbaren Kurvenschnitte beobachtbar (150 mM NaCl, 0,01M *Tris* · HCl, pH 7, Σ 7 μM , Detektion bei 245, 255, 265, 275 und 195 nm [47]); die bei 20° aufgenommene Misch-Kurve weist zwar beim Mischverhältnis 1:1 eine deutliche Schnittstelle auf, ist aber doch eher flach (vgl. *Fig. 24, e*). Die Auffassung, dass diese eher gegen die Bildung entsprechender Triplete unter den zugehörigen Bedingungen spricht, ist durch den Befund gestützt, dass bei der Gel-Elektrophorese (20% Polyacrylamid, *Tris*-Borsäure-Puffer, pH 8,0, 5–50 mM MgCl₂) sowohl die beiden *RH*-Selbstpaarungsduplexe, als auch der *WC*-Duplex als klar identifizierbare Flecken auftreten, jedoch bei Misch-Verhältnissen von 2:1 und 1:2 keine zusätzlichen Flecken, die einer Triplex-Bildung entsprechen könnten, beobachtet werden. Hieraus ziehen wir den Schluss, dass die (Purin-Purin-Purin)-Triplete mit homobasisigen G- und I-homo-DNS-Strängen deshalb nicht beobachtet werden, weil sich neben den *WC*-Duplex anstelle der *WC-RH*-Triplete die stabileren *RH*-Selbstpaarungsduplexe bilden (vgl. *Fig. 41*).

Da die Sequenz ddGlc(G-G-A-G-A-A) nur schwache Selbstpaarung zeigt ($T_m < 15^\circ$, vgl. *Tab. 8*), andererseits die *RH*-Mischpaarung zwischen Adenin und Isoguanin vergleichbar stark ist, wie die *RH*-Selbstpaarung von Isoguanin, hat sich der Versuch einer mögli-

⁴⁹) Das Konzept einer replikativen templatkontrollierten Ligation von Oligonucleotid-Strängen in Triplexen ist 1994 von *Li* und *Nicolaou* [78] in der DNS-Reihe am Beispiel der replikativen (12-mer → 24-mer)-Ligation einer palindromischen Oligonucleotid-Sequenz experimentiell illustriert worden. Über das (unseres Wissens) erste Beispiel einer (nicht-replikativen) Ligation in einem Oligonucleotid-Triplex vgl. *Luebke* und *Dervan* [79].

⁵⁰) In orientierenden Versuchen zur Trimerisierung von ddGlc(I₂)-6'-phosphat in Gegenwart des *RH*-Duplexes [ddGlc(G₆)₂] als Templat mit wasserlöslichem Carbodiimid unter *v. Kiedrowskischen* Bedingungen [76] konnte (nach Dephosphorylierung des Produktmaterials mit alkalischer Phosphatase) gel-elektrophoretisch kein Duplex ddGlc(G₆) · ddGlc(I₆) nachgewiesen werden [77].

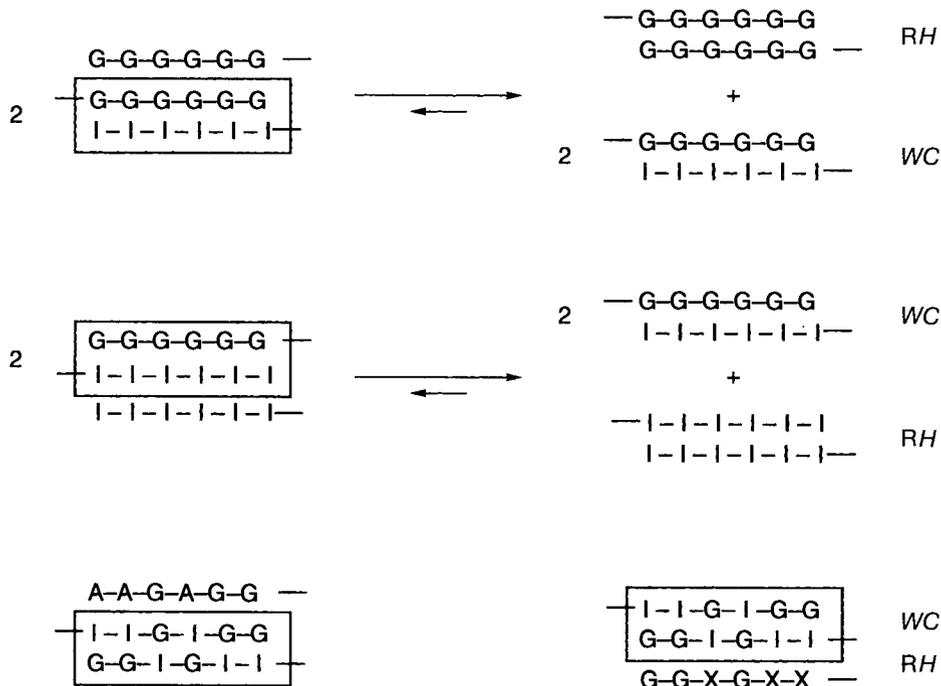


Fig. 41. Erfolgreiche Versuche zum Nachweis von (Purin-Purin-Purin)-Triplexen*

*) Exploratory experiments directed at an identification of purine triplexes were unsuccessful in the sense that neither UV spectroscopic melting- and mixing-curve determinations, nor tests on gel electrophoretic behavior under non-denaturing conditions gave unambiguous evidence for the formation of these triplexes (standard conditions of RH purine-purine pairing, with and without 0.15M MgCl₂) [10] [9]. This result is not unexpected for the homopurine G/I duplexes (top and middle). However, the failure to observe heteropurine triplexes (bottom) was more disappointing, since single strands of neither ddGlc(A-A-G-A-G-G), nor ddGlc(G-G-X-G-X-X) pair strongly with themselves (Table 8).

chen Beobachtung der (Purin-Purin-Purin)-Triplexbildung zwischen der erwähnten Sequenz und dem robusten WC-Selbstpaarungsduplex von ddGlc(I-I-G-I-G-G) (Fig. 41, unten links) aufgedrängt. Aber weder in 0,15M NaCl, noch in 0,15M MgCl₂-Lösung liess sich UV-spektroskopisch eine Triplex-Bildung identifizieren, und auch in der (nicht-denaturierenden) Gel-Elektrophorese in Gegenwart von MgCl₂ (vgl. [10], S. 199) war kein dem erwarteten Triplex zuzuschreibender Fleck zu erkennen. Gleiche Tests mit der Retro-Sequenz ddGlc(A-A-G-A-G-G), deren Triplex gegebenenfalls eine parallele Strang-Anordnung (mit *syn*-Konformation der Base) aufzuweisen hätte, fielen ebenfalls negativ aus. Misslungen sind schliesslich auch Versuche (vgl. [9], S. 166), beim gleichen WC-Duplex einen Triplex mit der Sequenz ddGlc(G-G-X-G-X-X) zu beobachten (Fig. 41, unten rechts). Auch diese Sequenz zeigt nur eine schwache (vermutlich (G/G))-Selbstpaarung (T_m 10°, $c = 19 \mu\text{M}$; vgl. Tab. 8), während im gesuchten Triplex Xanthin zusätzlich mit Isoguanin nach dem zur (G/G)-Paarung isomorphen RH-Modus (antiparallel) paaren könnte (vgl. Fig. 38, b). Allerdings ist auch die Selbstpaarung der Sequenz

ddGlc(I-I-X-I-X-X) nur schwach (*Tab. 8*), woraus zu schliessen ist, dass es sich bei der (X/I)-Paarung nach dem *RH*-Modus ohnehin nur um eine schwache Wechselwirkung handeln kann.

Wegen der nach den bisher besprochenen Vorversuchen verbliebenen Ungewissheit über die Frage der Existenz von (Purin-Purin-Purin)-Triplexen des in *Fig. 39* formulierten Typs, insbesondere auch wegen der Frage, ob es nebst der Konkurrenzierung der Triplex-Bildung durch Selbstpaarung zusätzliche, dem homo-DNS-Rückgrat immanente, *konstellative* Gründe gegen die Bildung solcher Triplexe gibt, haben wir das in *Fig. 42* erläuterte Experiment durchgeführt. Aus diesem geht hervor, dass es (zumindest für homobasige Sequenzen der Länge eines Hexameren) diese Gründe anscheinend nicht gibt.

Das Experiment ging von der Erwartung aus, dass in einem hypothetischen *WC-RH*-Triplex $\text{ddGlc}(G_6) \cdot \text{ddGlc}(I_6) \cdot \text{ddGlc}(I_6)$ der Drittstrang $\text{ddGlc}(I_6)$ durch $\text{ddGlc}(A_6)$ ersetzbar sein sollte (vgl. Misch-Paarung zwischen Adenin und Isoguanin; *Kap. 3.3* und *Fig. 20*), wenn das (Duplex \rightleftharpoons Triplex)-Gleichgewicht nicht infolge Selbstpaarung des Drittstranges auf der Seite der Duplexe läge. *Unterbindet man die Selbstpaarung des Drittstranges $\text{ddGlc}(A_6)$ dadurch, dass man ihn durch (das früher für analoge Zwecke bereitete) $\text{ddGlc}(^7C A_5-A)$ ⁵¹⁾ ersetzt (Adenin-Kerne nur noch an ihrer *WC*-Flanke paarungsfähig), so muss der in *Fig. 42* formulierte Triplex beobachtbar werden, sofern unerkannte konstellative Faktoren ihn nicht verhindern.* Ein entsprechender Test mit dem 7-Carba-Analogon von $\text{ddGlc}(I_6)$ wäre nicht zwingend, weil $\text{ddGlc}(^7C I_5-I)$ im Gegensatz zu $\text{ddGlc}(^7C A_5-A)$ die zum Teil an die Stelle der nicht-deaktivierten $\text{ddGlc}(I_6)$ -Sequenz im *WC*-Verbund treten kann. Das Gleiche gilt sinngemäss für einen Einsatz von $\text{ddGlc}(^7C G_6)$ ⁵²⁾ bezüglich der Frage nach dem *WC-RH*-Triplex $\text{ddGlc}(I_6) \cdot \text{ddGlc}(G_6) \cdot \text{ddGlc}(G_6)$.

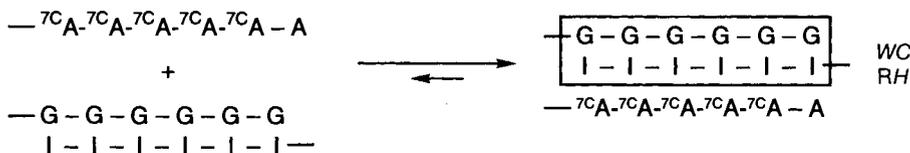
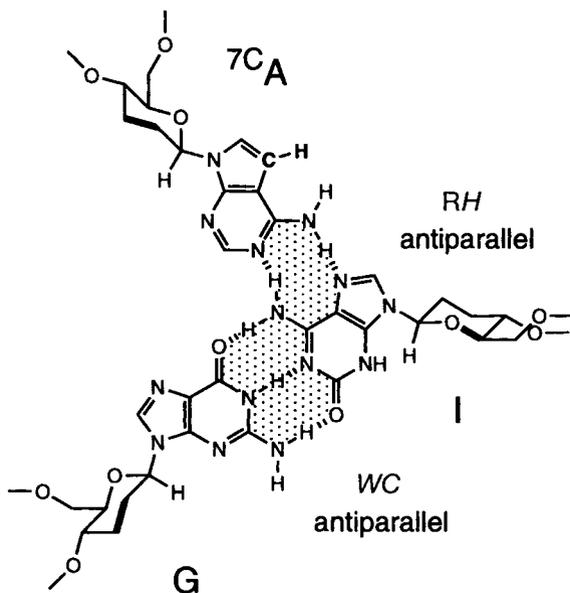
Folgende (in *Fig. 43* dokumentierte) Beobachtungen weisen auf die Bildung des (Purin-Purin-Purin)-Triplexes $\text{ddGlc}(G_6) \cdot \text{ddGlc}(I_6) \cdot \text{ddGlc}(^7C A_5-A)$ hin.

Die Schmelz-Kurve (und ihre abgeleitete Funktion) eines (1:1:1)-Gemisches der drei Sequenzen $\text{ddGlc}(G_6)$, $\text{ddGlc}(I_6)$ und $\text{ddGlc}(^7C A_5-A)$ lässt zwei klar voneinander zu unterscheidende Schmelz-Prozesse erkennen. Der höher liegende T_m -Wert von 59° (*ca.* 6 + 6 μM) entspricht anscheinend der Schmelz-Temperatur des *WC*-Duplexes $\text{ddGlc}(G_6) \cdot \text{ddGlc}(I_6)$ (vgl. *Fig. 23* und *24*), und da $\text{ddGlc}(^7C A_5-A)$ unter diesen Bedingungen keine Selbstpaarung eingeht (vgl. *Fig. 25* in [3], S. 316), ist der bei tieferer Temperatur (T_m 21°) liegende Schmelz-Vorgang der Entpaarung des Triplexes $\text{ddGlc}(G_6) \cdot \text{ddGlc}(I_6) \cdot \text{ddGlc}(^7C A_5-A)$ zuzuordnen. Aufheiz- und Abkühl-Kurve sind praktisch identisch. Die Schar der temperaturabhängigen CD-Spektren des (1:1:1)-Gemisches (vgl. [45], S. 108)⁵³⁾ entspricht weitgehend, zumindest über *ca.* 36°, der für den

⁵¹⁾ Zur Herstellung und Verwendung von $\text{ddGlc}(^7C A_5-A)$ bei der Aufklärung des A-Selbstpaarungsmodus vgl. [2] (S. 1430) und [3] (S. 316) sowie [45]. Dass in $\text{ddGlc}(^7C A_5-A)$ nur fünf der sechs Adenine durch das 7-Carba-Derivat ersetzt sind, ist durch das verwendete Trägermaterial bei der Festphasensynthese bedingt.

⁵²⁾ Dieses Experiment ist (später) tatsächlich durchexerziert worden [48] (T_m ($c = 4 + 4 + 4 \mu\text{M}$, 285 nm) 27° und 63°), aber weder die gel-elektrophoretische Analyse, noch die erhaltene Misch-Kurve konnten die Bildung eines Triplexes schlüssig beweisen bzw. den gegenseitigen Funktionstausch der beiden G-Sequenzen ausschliessen.

⁵³⁾ Die Aufnahme des CD-Spektrums verdanken wir *A. Giger* [45].



unter Standardbedingungen

Fig. 42. Erfolgreicher Nachweis der Bildung eines (Purin-Purin-Purin)-Triplexes durch Verwendung von 7-Carbaadenin*)

*) It was necessary to exclude the possibility that the failure to observe the triplexes of Fig. 41 could be due to an unrecognized conformational factor specific for homo-DNA. If the 7-carbaadenine analogue of ddGlc(A₆) (no longer self-pairing; see [3]) is used as the third strand of a ddGlc(G₆) · ddGlc(I₆) · ddGlc(⁷C A₅-A) triplex, then one would expect the carbaadenine strand to pair with its WC face in RH mode with the I strand of the WC duplex. (A similar test with the 7-carbaiguanine analogue of ddGlc(I₆) would be ambiguous, because 7-carba-I could replace I in the WC duplex). Observations documented in Fig. 43 show clearly that the expected triplex is formed under standard conditions, and, therefore, that no unrecognized factor inhibiting triplex formation is operative in the homo-DNA series.

Duplex ddGlc(G₆) · ddGlc(I₆) beobachteten Kurvenschar (vgl. Fig. 25, a; vgl. auch das kaum temperatur-unabhängige CD-Spektrum von ddGlc(⁷C A₅-A) in Fig. 25 in [3]). Dass unter den Versuchsbedingungen (0,15M NaCl, kein Mg²⁺!) ein Triplex sich bildet, ist

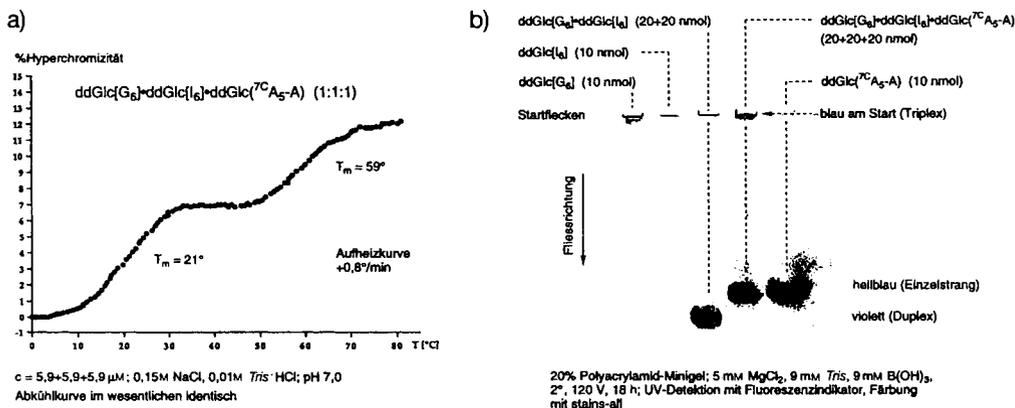


Fig. 43. a) T_m -Kurve eines (1:1:1)-Gemisches von $ddGlc(G_6)$, $ddGlc(I_6)$ und $ddGlc(^{7C}A_5-A)$ unter Standardbedingungen ($c = je\ ca.\ 6\ \mu M$); b) gel-elektrophoretischer Nachweis der Triplex-Bildung*)

*) a) T_m Curve of a 1:1:1 mixture of $ddGlc(G_6)$, $ddGlc(I_6)$, and $ddGlc(^{7C}A_5-A)$ under standard conditions (no $MgCl_2$!). Since there is no self-pairing of the third strand (see [3], p. 316), the lower T_m value must reflect melting of the triplex strand to the $ddGlc(G_6) \cdot ddGlc(I_6)$ WC duplex, which melts at the higher T_m value (see Figs. 23 and 24). There is essentially no hysteresis for the cooling path of the T_m curve. The temperature-dependent CD curves of the 1:1:1 mixture above *ca.* 36° correspond to those of the duplex (Fig. 25, a). b) Gel electrophoretic behavior of (from left to right) RH duplex of $ddGlc(G_6)$, RH duplex of $ddGlc(I_6)$, 1:1 mixture of $ddGlc(G_6)$ and $ddGlc(I_6)$ (= WC duplex), 1:1:1 mixture of triplex partners, single strand $ddGlc(^{7C}A_5-A)$ (conditions indicated). The absence of the (violet) spot of the WC duplex in the 1:1:1 mixture containing $ddGlc(^{7C}A_5-A)$ and the appearance of a (blue) spot at the start indicate the formation of the triplex; this was corroborated by HPLC analysis of the blue-spot material.

auch durch den Vergleich des gel-elektrophoretischen Verhaltens der drei beteiligten Hexamer-Stränge und ihren Gemischen unter nicht-denaturierenden Bedingungen (bei 2° in Gegenwart von $0,005M\ MgCl_2$) gestützt. Im Gegensatz zu den entsprechenden Beobachtungen beim System $ddGlc(G_6) \cdot ddGlc(I_6)$ (vgl. oben) beobachtet man hier beim (1:1)-Gemisch des Duplexes $ddGlc(G_6) \cdot ddGlc(I_6)$ mit $ddGlc(^{7C}A_5-A)$ das Verschwinden des charakteristischen (violetten) Flecks des Duplexes und an seiner Stelle das Auftauchen eines (am Start haftenden, blauen) Flecks, welcher einer Komplexierung zwischen Duplex und Einzelstrang entsprechen muss (Fig. 43, b). Dies wurde durch HPLC-Analyse belegt⁵⁴): Das aus dem Startfleck eluierte Material enthielt (nebst insgesamt acht nicht näher untersuchten, jedoch alle in untergeordneten Mengen auftretenden Nebenprodukten⁵⁵) zwei HPL-chromatographisch klar identifizierte Hauptprodukte,

⁵⁴) Entsprechender Gelb-Bezirk (vor dem Anfärben) ausgeschnitten, in Eppendorf-Rohr tiefgekühlt zerstoßen, in $400\ \mu l$ TBM-Puffer kurz mit Ultraschall behandelt, 24 h auf 50° erwärmt, zentrifugiert, überstehende Lösung abpipettiert, an SEPAC entsalzt und HPL-chromatographiert. Aquapore RP-300, $7\ \mu m$, 1 ml/min, Elution mit $0,1N$ TEA-Acetat in H_2O (pH 7) mit Gradient bis 40%, $0,1N$ TEA-Acetat in $H_2O/MeCN$ (1:4) innert 30 min, Detektion 282 nm; t_R (Duplex(G_6/I_6)) 18,3 min, t_R (Einzelstrang ($^{7C}A_5-A$)) 27,0 min. Retentionszeit und relative Extinktion von Einzelsträngen und WC-Duplex an authentischen Referenzproben überprüft bzw. bestimmt. Im verwendeten HPL-System läuft ein (1:1)-Gemisch von $ddGlc(G_6)$ und $ddGlc(I_6)$ als Duplex.

⁵⁵) Nebenproduktbildung wohl während Elektrophorese.

nämlich den Duplex $\text{ddGlc}(\text{G}_6) \cdot \text{ddGlc}(\text{I}_6)$ und den Einzelstrang $\text{ddGlc}({}^{7\text{C}}\text{A}_5\text{-A})$ im ungefähren Verhältnis von 1:1 (Detektion 282 nm, Anteil am HPL-chromatographisch gesamthaft erfassten Material: 52%).

Wiewohl den soweit durchgeführten Versuchen zum Nachweis des Triplexes $\text{ddGlc}(\text{G}_6) \cdot \text{ddGlc}(\text{I}_6) \cdot \text{ddGlc}({}^{7\text{C}}\text{A}_5\text{-A})$ nur orientierenden Charakter zuzuerkennen ist, ziehen wir den Schluss, dass es keine Rückgrat-bedingte konstellative Gründe gibt, die eine Bildung von (Purin-Purin-Purin)-Triplexen des *WC-RH*-Typs in der homo-DNS-Reihe verhindern würden.

4. Zur Frage des Tautomerie-Gleichgewichts bei der Purin-Base Isoguanin; Folgerungen aus Beobachtungen über ihr Paarungsverhalten (mit einem Kommentar über einen der Lage von Tautomerie-Gleichgewichten in Carbonyl-Systemen bestimmenden Faktor). – Wie bereits in den Vorbemerkungen zu *Kap. 3* berichtet, hatte die zu Beginn unserer Untersuchungen über (Purin-Purin)-Paarungen verfolgte Arbeitshypothese zur Existenz einer *WC*-Paarung zwischen Isoguanin und Guanin (*Fig. 3*) im Widerspruch mit den damals geltenden Vorstellungen über die Lage des Tautomerie-Gleichgewichts beim Isoguanin gestanden. In der Folge hat sich dieser Paarungstyp als prominente Eigenschaft der homo-DNS erwiesen (*Kap. 3.4*), so dass eine Erörterung der Frage nach dem Tautomerie-Gleichgewicht dieser Purin-Base im Lichte ihres bislang bekannt gewordenen Paarungsverhaltens angezeigt ist. Dabei berücksichtigen wir auch unsere erst neulich gemachten Beobachtungen über das Paarungsverhalten des Isoguanins in der p-RNS-Reihe [7][8][80], soweit dies für die Frage nach der Lage des Tautomerie-Gleichgewichts relevant erscheint [81][82].

In ihrer klassischen Arbeit über die Tautomerie in 9-substituierten Isoguanin-Derivaten haben *Sepiol et al.* [63] die drei in *Fig. 44* aufgezeichneten Tautomeren⁵⁶⁾ in Betracht gezogen. Auf Grund eingehender, insbesondere UV-spektroskopischer Vergleiche mit problemgerecht *N*- und *O*-methylierten (oder alkylierten) Derivaten sind die Autoren zum Schluss gelangt, dass in neutraler wässriger Lösung der Isoguanin-Kern als *1H*-Tautomer vorliegt, und dass in diesem Medium sowohl die *3H*-Form, als auch die Iminol-Form als Hauptisomer auszuschliessen seien. Im Lösungsmittel Dioxan (zwecks Gewährleistung der Löslichkeit 0,5% H_2O enthaltend) soll hingegen das Tautomerie-Gleichgewicht auf der Seite der Iminol-Form liegen, dies gemäss ausgeprägter Ähnlichkeit des kurzwelligen Teils des UV-Absorptionsspektrums von 9-Methylisoguanin mit dem Spektrum von 2-Methoxy-9-

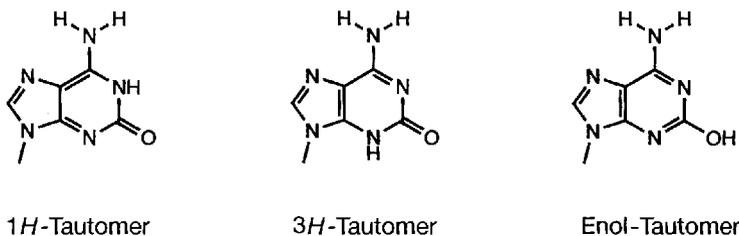
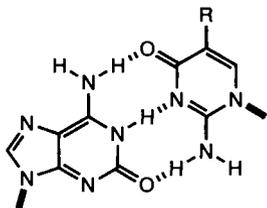


Fig. 44. Tautomeren des Isoguanins*)

*) The strong purine-purine pairing between G and I is a prominent feature of the pairing properties of homo-DNA. The *WC* mode which we assign to this pairing requires isoguanine to participate as its *3H*-tautomer. However, the relevant literature on isoguanine tautomerism [63] [86] concludes that the *1H*-lactam tautomer is predominant, accompanied by the enol tautomer, which is reported to become the main tautomer in dioxane. *Chapt. 4* discusses isoguanine tautomerism in the context of the base-pairing behavior observed in our laboratory. *Footnote 64* explores the actiologically relevant circumstance that natural purines and pyrimidines are lactams rather than iminols, and incorporates this fact into a discussion of why $\text{C}=\text{O}$ bonds have a higher (apparent) bond energy than $\text{C}=\text{C}$ bonds.

⁵⁶⁾ In zahlreichen Arbeiten älteren und neueren Datums findet sich Isoguanosin als *3H*-Tautomer formuliert [28][31][83], während z. B. *Cherbuliez* und *Bernhard* [85], welche Isoguanosin erstmals als Naturstoff isolierten, die Enol-Form verwendeten (wohl in Anlehnung an *Emil Fischer*, der die Purin-Base '3-oxyadenin' erstmals synthetisiert hatte [86]).

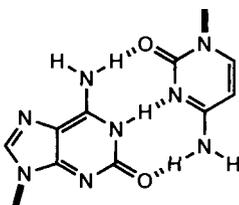
methyladenin. Erst kürzlich ist diese Interpretation von *Seela et al.* [87] durch UV-spektroskopischen Vergleich von Isoguanosin und 2'-Deoxyisoguanosin mit den entsprechenden *N*(1)-methylierten, *O*-methylierten und intramolekular (5' → 3')-cycloalkylierten Derivaten bekräftigt worden (vgl. auch [64]). Der Konstitutionsvorschlag für Isoguanin von *Sepiol et al.* [63] hat mehrfach als Grundlage für die Interpretation oder als Ausgangspunkt für die Überprüfung des Paarungsverhaltens von Isoguanin gedient; *Fig. 45* gibt einen Überblick über in der Literatur



DNS-Reihe:

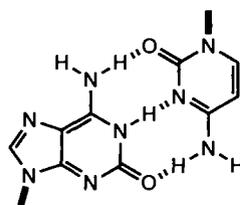
R = H (Isocytosin) [41] [62] [87] [88]

R = Me (5-Methylisocytosin) [89] [90]



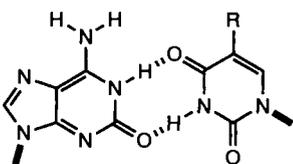
DNS-Reihe: [92]

(Strang-Orientierung parallel,
isochiraler RWC-Duplex)

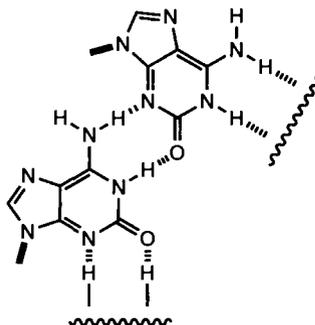


p-RNS-Reihe: [82]

(Strang-Orientierung antiparallel,
heterochiraler RWC-Duplex)



DNS-Reihe: [93]



DNS-Reihe: [58] [94]

Fig. 45. Übersicht über in der Literatur erwähnte Paarungen des Isoguanins)*

*) Overview of isoguanine pairings described in the literature where the purine must participate as its 1*H*-tautomer.

beschriebenen Fälle von Basenpaarung, welche die Teilnahme des Isoguanin-Kerns als sein 1*H*-Tautomer voraussetzen [62][41][58][82][87-90][92-94]. Dabei ist an die von Rich [61] 1962 gemachte Anregung zu erinnern, wonach Isoguanin mit Isocytosin ein dem natürlichen Paar Guanin-Cytosin analoges Basenpaar bilden sollte⁵⁷⁾; erst kürzlich hat diese durch enzymatischen Einbau von Isoguanin in RNS an einem Isocytosin-haltigen DNS-Templat [62] ihre experimentelle Realisierung gefunden. Wohl für keine der in Fig. 45 aufgeführten und zugehörigen Literaturstellen beschriebenen Paarungskombinationen sind, so scheint uns, konstitutionell zu begründende Zweifel über die Teilnahme des Isoguanin-1*H*-Tautomers am Paarungsvorgang vorzubringen. *Aber ebensowenig kann auf Grund der sowohl in der homo-DNS-, als auch in der p-RNS-Reihe* [7][81][82] zur (Isoguanin-Guanin)-Paarung gemachten Befunde (Fig. 46) ein konstitutionell zu begründender Zweifel darüber aufkommen, dass der Isoguanin-Kern in diesen Oligonucleotid-Systemen in der Lage ist, sein 3*H*-Tautomer für eine Basenpaarung mit Guanin nach dem WC-Modus zur Verfügung zu stellen. Als ein in diesem Zusammenhang belangvoller Befund darf die in der p-RNS-Reihe gemachte Beobachtung der heterochiralen Paarung homochiraler Oligo(ribopyranosyl-(4' → 2')-isoguanosin)-Stränge gelten (Fig. 46) [82]: während homochirale D(oder L)-pr(I_n)-Stränge unter Standardbedingungen mit sich selbst keine Paarung eingehen, vereinigen sich D- und L-Stränge im (1:1)-Gemisch zu quasi-racemischen (1:1)-Komplexen, in welchen (höchst wahrscheinlich) 1*H*-Tautomeren mit 3*H*-Tautomeren des Isoguanins quasi-zentrosymmetrische *RH*-Basenpaare bilden.

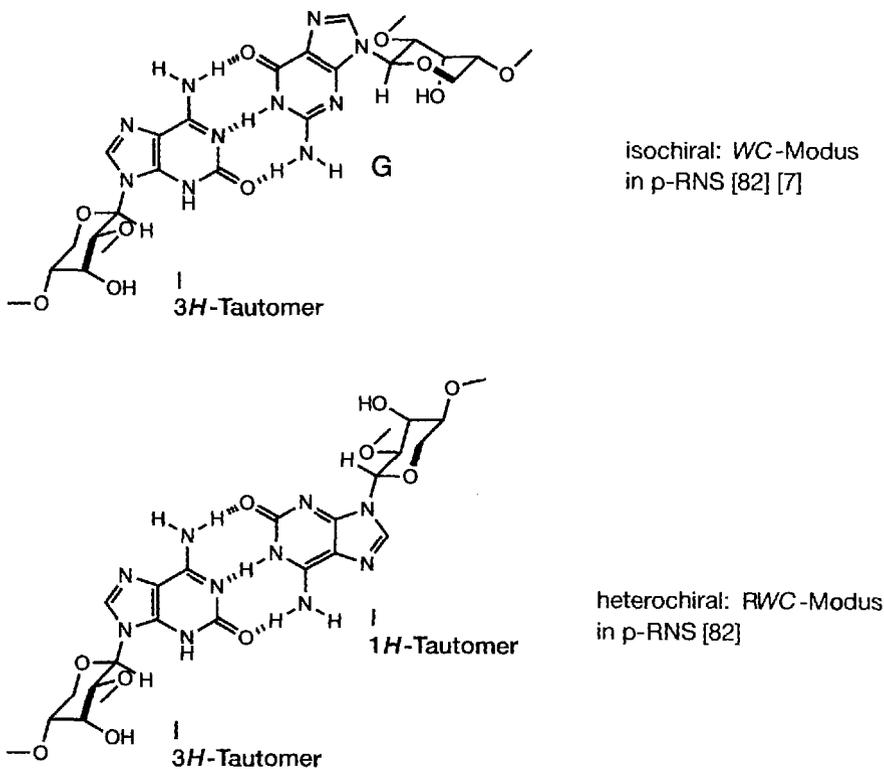
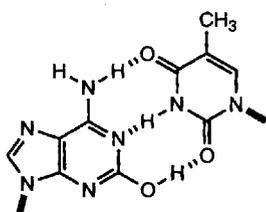


Fig. 46. In der Pyranosyl-RNS-Reihe beobachtete (Purin-Purin)-Paarungen mit Isoguanin*)

*) In addition to the G-I WC pairing in homo-DNA (see Figs. 23 and 42, we have observed two cases of pairing in the p-RNA series in which isoguanine also appears to participate as its 3*H*-tautomer. One is isochiral G-I pairing (which corresponds to that observed in homo-DNA) and the other is the quasi-centrosymmetric I-I self-pairing between two homopurine p-RNA strands with opposite sense of chirality [82].

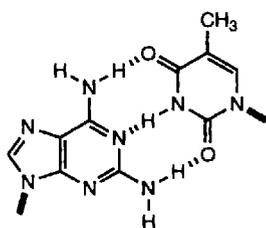
⁵⁷⁾ 'It is important to note that this requires the hydrogen atom in isoguanine be located on N-1 of the ring rather than on N-3. It is not clear whether this is fulfilled in isoguanine' [61] (p. 120).

Gibt es experimentelle Beobachtungen, deren Interpretation eine Basenpaarung des Isoguanin-Kerns in seiner *Iminol-Form* verlangt? Die Frage ist, von einem kontrovers zu interpretierenden Fall abgesehen ⁵⁸), bislang zu verneinen. In dieser Auffassung werden wir vor allem durch das Ergebnis eines spezifisch auf die gestellte Frage hin angestellten Experiments bestärkt: in der p-RNA-Reihe, wo das Oligomere pr(I₈) unter Standardbedingungen bei Raumtemperatur als Einzelstrang vorliegt, und wo deshalb optimale Voraussetzungen für die Beobachtung einer (Isoguaninenol-Thymin)-Paarung nach dem dreizähligen WC-Modus gegeben sind, beobachtet man *keine* Paarung zwischen pr(I₈) und pr(T₈) ⁵⁹), und dies unter Bedingungen, wo entsprechende Oligomere des (dreizählig paarenden) 2,6-Diaminopurins, wie auch des (zweizählig paarenden) Adenins konstitutionsgerecht hoch schmelzende Duplexe bilden (vgl. Fig. 47). Wäre unter Paarungsbedingungen der Iminol-Form des Isoguanins zu-

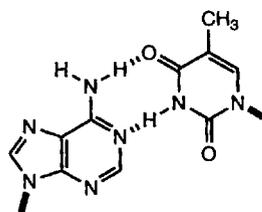


in p-RNS-Reihe NICHT BEOBACHTBAR ^{a)}

pr(I₈) + pr(T₈) (1:1):
T_m < 0° (5 + 5 μM)



pr(D₈) + pr(T₈) (1:1):
T_m = 50° (5 + 5 μM)



pr(A₈) + pr(T₈) (1:1):
T_m = 40° (5 + 5 μM)

in 0,15M NaCl, 0,01M Tris-HCl, pH7

^{a)} Keine Selbstpaarung des I-Einzelstranges unter Standardbedingungen bei Raumtemperatur

Fig. 47. Zur Frage, ob Isoguanin in seiner tautomeren Iminol-Form an Paarungen teilnimmt*)

*) With perhaps one exception ⁵⁸), no case is known where isoguanine participates in pairing in its enol form. Relevant to this issue is our finding in the (homochiral) p-RNA series (where observation of pairing with isoguanine is not hampered by isoguanine self-pairing, since p-RNA does not show pairing in the RH mode [7] [81] [82]) that there is no pairing between pr(I₈) and pr(T₈). This is a combination of strands which – were any enol form of isoguanine (with the conformation depicted in the Figure) available – could form a WC pair without any constraints (cf. the T_m values of the corresponding octamer duplexes with D/T and A/U pairing [7] [82]).

⁵⁸) Eine neulich von Wang und Switzer [93] durchgeführte Röntgen-Struktur- und NMR-Analyse eines Duplexes der DNS-Sequenz d(CGcisoGAATTTGCG) zeigte die beiden (isoG-T)-Paare in zwei anscheinend verschiedenen Paarungsmodi; das eine als WC-Wobble-Paar, das andere in einer Anordnung, die von den Autoren als ('sheared') Isoguaninenol-Thymin WC-Paar interpretiert wird. Die Analyse wird zur Zeit verfeinert. Wir danken Prof. C.Y. Switzer (U.C., Riverside) für seine Orientierung über diese Beobachtung vor ihrer Publikation.

⁵⁹) Unpubliziertes Experiment, durchgeführt von R. Krishnamurthy (Postdoktorat ETH, 1994).

gänglich, so sollte sich dies in diesem Experiment gezeigt haben (vgl. hierzu die Zugänglichkeit des 3*H*-Tautomeren für die Paarung).

Allerdings ist die Möglichkeit zu bedenken, dass die in *Fig. 48* links oben aufgeführte Konformation der Iminol-Form gegenüber der rechts oben aufgeführten energetisch bevorzugt sein könnte. Für die Vorstellung, dass in einem aromatischen π -System mit phenolischer OH-Gruppe, die (O–H)-Bindung *synplanar* zu jener π -Bindung zu stehen hat, welche die höhere π -Bindungsordnung aufweist, gibt es Belege sowohl empirischer, als auch theoretischer Art⁶⁰). Dass im vorliegenden Fall die delokalisierte Realstruktur des Isoguanin-Kerns stärker der linken als der rechten Grenzstruktur von *Fig. 48* zu entsprechen hätte, schiene zwar nicht unplausibel (geringere Störung der Aromatizität im Imidazol-Kern), doch kann dies für die hier anstehende Frage doch wohl kaum den Ausschlag geben, denn sonst wäre die anscheinend doch ausgewogene Gleichgewichtslage zwischen der 1*H*- und 3*H*-Form bei den Lactam-Tautomeren (vgl. *Fig. 48*, links und rechts unten) nicht zu verstehen.

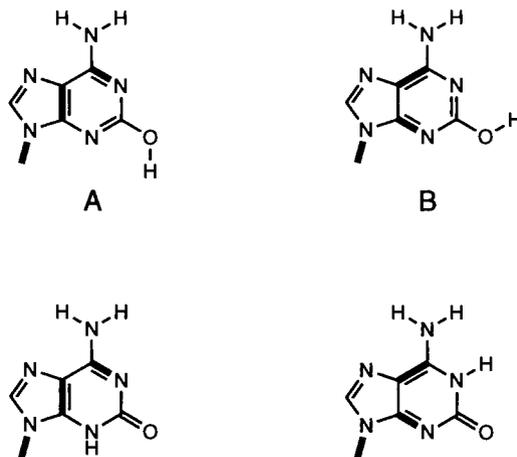


Fig. 48. Zur Frage der relativen Stabilität der zwei Konformeren A und B der Iminol-Form des Isoguanins)*

*) There are some complications regarding the conclusion outlined in *Fig. 47*. First, it is possible that a conformational equilibrium between iminol forms may lie on the side of iminol *A*, while *B* is the conformation required for pairing of the type formulated in *Fig. 47*. Second, in *A* and *B* the O-H bond should be *syn-planar* with the aromatic bond having higher π bond order⁶¹). Comparison of the (dominant) canonical structures for the two iminol forms with those of the two lactam forms speaks against the possibility that the iminol equilibrium is one-sided to the extent that it would be deciding between pairing or non-pairing.

⁶⁰) Vgl. z. B. die bevorzugte Konformation von Estern [95], Vinyl-ethern [96][97] sowie phenolischen Ethern [98] (Alkyl-Gruppen *syn-planar* zu Doppelbindungsachse bzw. Achse der Bindung mit höherer π -Bindungsordnung). Über qualitative Begründungen, welche die Übertragung dieser Erfahrungen auf das hier in Frage stehende Beispiel nahelegen vgl. [99][100].

⁶¹) Zur Orientierung vgl. die UV-Daten der in [63] bzw. [87] als Modelle für die 1*H*- und 3*H*-Lactam-Form verwendeten *N*(1)- und *N*(3)-alkylierten Isoguanin-Derivate sowie UV-Daten von isoguaninhaltigen homo-DNS- und p-RNS-Oligonucleotiden *1H-Lactam-Form-Modelle*: 9-Methyl- *N*(6), 1-ethanoisoguanin [63]: $\lambda_{\max} \approx 250, 292$ nm in H₂O; 252, 309 nm in Dioxan/5% H₂O; 1-Methylisoguanosin [87]: 249, 292 nm in H₂O. *3H-Lactam-Form-Modelle*: 3,9-Dimethylisoguanosin [63]: $\lambda_{\max} \approx 280$ mit Schulter um 240 nm in H₂O, 285 mit Schulter um 240 nm in Dioxan/5% H₂O; (5' → 3')-Cycloisoguanosin [87]: 279 nm ohne Schulter um 240 nm, in H₂O. *Isoguaninhaltige homo-DNS- und p-RNS-Oligonucleotide*: ddGlc(I₆) (19 · 10⁻⁶ M, H₂O, RT.): $\lambda_{\max} = 247, 290$ mit Schulter bei 298 nm, Intensitätsverhältnis ca. 3,5:4:3 (vgl. *Exper. Teil*). ddGlc(IIIIGGG) (26 · 10⁻⁶ M, H₂O, RT.): 249, 276 mit Schulter um 305 nm, Intensitätsverhältnis ca. 3:2:0,5 (vgl. *Exper. Teil*). D-pr(G₈) · D-pr(I₆) (10 · 10⁻⁶ M, H₂O, RT.): 252, 282 mit Schulter um 300 nm, Intensitätsverhältnis ~ 3:2:1 [101][81]. D-pr(I₆) · L-pr(I₆) (10 · 10⁻⁶ M, H₂O, 0°): 248, 290 mit Schulter um 300 nm, Intensitätsverhältnis ca. 1:1:0,8 [101][82].

Schickt man sich an, auf Grund von Paarungsbeobachtungen auf das Vorkommen oder Nichtvorkommen der Iminol-Form unter den Tautomeren des Isoguanin-Kerns in Oligonucleotiden zu schliessen, so mahnt die oben im Kap. 3.5 erörterte Erfahrung über das Paarungsverhalten des *O*-Benzylisoguanins zur Vorsicht. Gemäss der in Fig. 35 gegebenen (hypothetischen) Formulierung des (Benzylisoguanin-Guanin)-Basenpaars müsste man wohl auch eine Paarung zwischen der (vermutlich) stabileren der beiden Iminol-Formen des Isoguanins und dem Guanin akzeptieren. (Fig. 49, links). Von einem solchen iminolischem Basenpaar würde man nun aber erwarten, dass es nicht als solches verharret, sondern in die stabilere (gepaarte) Lactam-Form (Fig. 49, rechts) übergeht; als stabiler würde man die Lactam-Form des Basenpaars deshalb einschätzen, weil sie (sinngemäss) der *O*-protonierten Form einer Lactam-Gruppe entspricht, die Iminol-Form des Basenpaars dagegen der *O*-protonierten Form eines Iminols (die Protonierung würde im ersten Fall die konjugative ($n \rightarrow \pi^*$)-Stabilisierung des aromatischen Systems tendenziell verstärken, im letzteren Fall dagegen schwächen). So sehr drängt sich diese Art der Argumentation hier auf, dass man versucht ist, sie sinngemäss auch zur Deutung des (sowohl von *Sepiol et al.* [63] als auch von *Seela et al.* [87] dokumentierten) Phänomens ins Spiel zu bringen (Fig. 49, unten), wonach die (bzw. eine) Iminol-Form im Lösungsmittel Dioxan das dominierende Tautomere von *N*(9)-substituierten Isoguanin-Derivaten darstellt, in wässriger Lösung jedoch die 1*H*-Lactam-Form als Haupttautomer auftritt. Während die Interpretation der UV-spektroskopischen Daten bezüglich der Lage des Tautomerie-Gleichgewichts in Dioxan [63][87] als schlüssig gelten darf, ist die verbreitete Auffassung, wonach 'die Iminol-Form' das Nebentautomere in wässriger Lösung sei, eine durch die entsprechenden UV-spektroskopischen Daten nicht wirklich gestützte Extrapolation. Die Daten scheinen uns durchaus auch mit der Alternative vereinbar zu sein, die sich aus den bisherigen Beobachtungen über das Paarungsverhalten des Isoguanin-Kerns in wässriger Lösung nahelegt, dass nämlich in H₂O nebst der 1*H*-Lactam-Form nicht die Iminol-Form, sondern die 3*H*-Lactam-Form als zweites Tautomere des Isoguanin-Kerns vorliegt, und beide Lactam-Formen zur Bildung von Basenpaaren zur Verfügung stehen. Auf UV-spektroskopischem Wege an 9-substituierten Isoguanin-Derivaten in wässriger Lösung das Vorliegen der 3*H*-Lactam-Form neben der 1*H*-Lactam-Form oder der Beteiligung der ersteren an Paarungsvorgängen in Oligonucleotiden schlüssig nachweisen zu wollen, dürfte indessen auf Grund der bislang in der Literatur

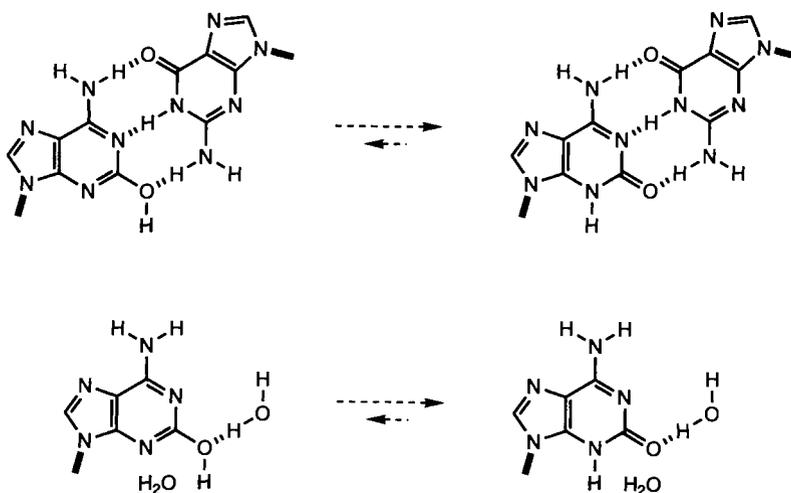


Fig. 49. Die Iminol-Form des Isoguanins sollte bei der Paarung mit Guanin in die Lactam-Form übergehen*)

*) If iminol *A* (see Fig. 48) were the predominant iminol form, it still could give rise to pairing with G of the type formulated above, for reasons analogous to those offered in favor of (bcnzyI-*O*-I)-G pairing (see Fig. 35). However, *within* such an (I-iminol)-G pair, a tautomeric equilibrium lying on the side of the (I-3*H*-lactam)-G pair should be established, so that the observation of I-G WC pairing as such does not necessarily mean that iminol *A* is absent. On the other hand, the reasoning behind this analysis would also predict that in water (but not in dioxane) the 3*H*-lactam tautomer of isoguanine should be more stable than the iminol tautomer.

[63][87] dokumentierten, und auch aus der homo-DNS- und p-RNS-Reihe stammenden Daten⁶¹⁾ kaum möglich sein; hierzu wären präzisere Daten, insbesondere für die Oligonucleotide, vonnöten⁶²⁾.

Die Bereitschaft des Isoguanins, im DNS-Basenpaarung mit mehr als einem einzigen Tautomeren einzugehen und deshalb in der Basenpaarung weniger selektiv als Guanin zu sein, ist in der Literatur schon des öfteren mit der Tatsache in Zusammenhang gebracht worden, dass Isoguanin nicht zu den kanonischen Basen gehört, bzw. die Natur bei ihrer Selektion der Bausteine ihres genetischen Apparats dem Guanin den Vorzug gegenüber dem Isoguanin gegeben habe [62][67]. In den *Bennerschen* Experimenten über den enzymatischen Einbau des komplementären Basenpaars Isoguanin-Isocytosin in DNS und RNS ist in der Tat eine geringere Einbauspezifität festgestellt worden; die dabei implizierte Fehlpaarung mit Thymin (bzw. Uracil) wurde einerseits auf die relativ leicht erfolgende Hydrolyse des Isocytosins zu Uracil, und andererseits auf die Mitwirkung der Iminol-Form der Isoguanin-Base zurückgeführt [62][93][89]. Auf die Möglichkeit, dass nicht die Iminol-Form, sondern ein 'Wobble-Pair' Isoguanin-Thymin hier mitspielen könnte, ist von *Tor* und *Dervan* [89] hingewiesen worden; darüberhinaus ist daran zu erinnern, dass die 3*H*-Lactam-Form des Isoguanosins ein Keto-Derivat des Adenins darstellt, dass also Isoguanin das Adenin in der Paarung mit Thymin vertreten könnte.

Auf die Frage, warum Isoguanin bezüglich der Verfügbarkeit seiner beiden Lactam-Tautomeren sich so unterschiedlich zu Guanin⁶³⁾ verhält, ist auf qualitativer Ebene vorab mit dem Hinweis zu beantworten, dass das zweite Keto-Tautomer des Guanins nicht ebenfalls eine Lactam-Form, sondern eine γ -Pyridon-Form darstellt. Bei Heterocyclen gelten – *ceteris paribus* – α -Pyridon-Formen (Lactam-Formen) im Vergleich zu γ -Pyridon-Formen als stabiler [102][103]. Die Frage, warum beim Isoguanin die Iminol-Form leichter zugänglich sein soll als beim Guanin, ist auf qualitativer Ebene schwierig zu kommentieren. Die Tatsache indessen, dass in der Reihe der Purine und Pyrimidine die Lactam-Formen in H-verbrückendem Medium generell stabiler sind [104], hat nicht nur einen auf qualitativer Ebene einleuchtenden Grund, sondern ist vor allem auch aus aetiologischer Sicht von einzigartiger Bedeutung⁶⁴⁾.

62) *Nachtrag vor Einsendung des Manuskripts*: zum Tautomerie-Problem bei Basenpaarungen mit Isoguanin vgl. eine kürzlich erschienene Arbeit von *Switzer* und Mitarbeitern [106].

63) Bislang sind anscheinend keine Fälle bekannt, in welchen der Guanin-Kern in seiner γ -Pyridon-Form an einer Basenpaarung teilnehmen würde. Über eine in diesem Zusammenhang bemerkenswerte Beobachtung in der p-RNS-Reihe vgl. [82].

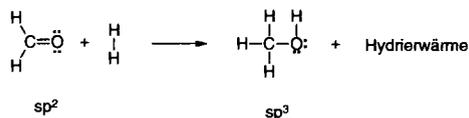
64) Träfe die in der Geschichte der Naturwissenschaften berühmt gewordene [105] (weil seinerzeit von *J. Donohue* in einer kritischen Phase der Suche nach der DNS-Doppelhelix an *Watson* und *Crick* [65] mitgeteilte) Tatsache der Dominanz der Keto-Formen bei Purinen und Pyrimidinen [104] nicht zu, d. h. würden umgekehrt deren Iminol-Formen stabiler sein als die Lactam-Formen, so gäbe es keine WC-Paarung und damit keine DNS (und RNS) der uns heute bekannten Art. Ob in einer solchen, anscheinend 'nur geringfügig' von der unsrigen sich unterscheidenden Welt Leben überhaupt hätte entstehen können, ist eine gedankenexperimentelle Frage, der man als Chemiker mit eindrücklicher Hilflosigkeit gegenübersteht. Kraft ihrer Bedeutung für die Basenpaarung bei den natürlichen Nucleinsäuren gehört die Lage des (Lactam \rightleftharpoons Iminol)-Gleichgewichts in Purinen und Pyrimidinen in dem Sinne zu den biologisch besonders relevanten Eigenschaften der Materie, als schon eine geringe (d. h. nur wenige kcal/mol implizierende) Veränderung die Existenz des Biologischen in Frage stellen würde. Angesichts solchartiger Bedeutung dieses speziellen chemischen Gleichgewichts möchte man seine spezifische Lage gerne auf qualitativ-chemischer Ebene verstehen, bzw. in kohärentem Zusammenhang mit anderen Eigenschaften organischer Verbindungen sehen wollen. Die hier in Frage kommenden Eigenschaften sind wohl die, welche in der Chemie der Carbonyl-Verbindungen ihren generellen Ausdruck in den so drastisch unterschiedlichen Werten für die mittlere Bindungsenthalpie der (C=O)-Bindung gegenüber den entsprechenden Werten der (C=C)-Bindung haben. Diese Werte liegen für durchschnittliche Keton-(C=O)-Bindungen bekanntlich um ca. 30 kcal/mol höher als für durchschnittliche Olefin-(C=C)-Bindungen [107]. Der Unterschied reflektiert u. a. die Eigenschaft der Carbonyl-Verbindungen, im Normalfall generell als Ketone (bzw. Aldehyde) und nicht als Enole vorzuliegen; (C=O)-Bindungen verhalten sich so, als wären sie 'stärkere Doppelbindungen' als (C=C)-Bindungen. Da die mittleren Bindungsenthalpie-Werte von (neutralen) (C=N)-Bindungen mit jenen der (C=C)-Bindungen vergleichbar sind [107], gilt die Feststellung sinngemäss auch für Amid(bzw. Lactam)-Gruppen. So gelangt man zur Feststellung, dass es vor allem 'die besondere Stärke der Carbonyl-Doppelbindung' ist, die sich in der Lage der Tautomerie-Gleichgewichte bei den biologisch relevanten Purinen und Pyrimidinen widerspiegelt.

Hier kann man nicht umhin weiter zu fragen: Warum sollen (C=O)-Bindungen 'stärkere Doppelbindungen' sein als (C=C)-Bindungen? Enttäuschenderweise findet man weder in Lehrbüchern, noch (anscheinend)

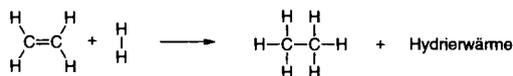
64) (Fortsetzung)

in Vorlesungen über organische Chemie diese Frage gestellt, geschweige denn kommentiert, 'enttäuschend' deshalb, weil der auf die Frage zu gebende Kommentar einen Aspekt der Definition und der Anwendung des Konzepts der mittleren Bindungsenthalpie-Werte betrifft, dessen Klarstellung dem Verständnis der Chemie der Carbonyl-Verbindungen förderlich ist. Die Erfahrung, weder in der Literatur noch bei Recherchen bei Fachkollegen diesem an sich elementaren Kommentar begegnet zu sein, ist hier Anlass zu dessen kurzer Darlegung.

Im Rahmen des qualitativen (σ/π)-Bindungsmodells der organischen Chemie liegt der im vorliegenden Zusammenhang ins Gewicht fallende Unterschied zwischen (C=O)- und (C=C)-Bindung darin, dass das Carbonyl-System nicht nur ein System von Bindungspartnern und Bindungen darstellt, sondern auch nicht-bindende Elektronenpaare an einem der Bindungspartner aufweist. Die sich pragmatisch begründende Definition der mittleren Bindungsenthalpien (Summe der mittleren Bindungsenthalpien ergibt die atomare Bildungsenthalpie einer Verbindung) ignoriert das Vorkommen von nicht-bindenden Elektronenpaaren in organischen Verbindungen, ignoriert deshalb auch die Änderung der Beiträge zur atomaren Bildungsenthalpie, die bei Konstitutionsänderungen durch Änderung der Energie nicht-bindender Elektronenpaare als Folge der Umhybridisierung an entsprechenden Bindungszentren zustande kommen. Solche Beitragsänderungen werden durch die Definition der mittleren Bindungsenthalpien pauschal den Änderungen der konstitutionell zugehörigen mittleren Bindungsenthalpien zugeschlagen. So z. B. reflektiert die Bilanz der mittleren Bindungsenthalpien und Hydrierwärme für den Übergang



bezüglich der (C,O)-Wechselwirkung nicht nur die mit dem Übergang einer (C=C)-Bindung in eine (C-O)-Bindung einhergehende Änderung der 'eigentlichen' Bindungsenergie (Bilanz der Energie-Änderungen von beteiligten bindenden Elektronenpaaren) sondern auch die Änderung der Energien von zwei nicht-bindenden Elektronenpaaren, die mit der Umhybridisierung des O-Zentrums von sp^2 zu sp^3 einhergeht. Dieser nicht unbeträchtliche Betrag (im HMO-Modell sprechen nicht-bindende Elektronenpaare energetisch stärker auf Rehybridierung von Bindungspartnern an als bindende Elektronenpaare, vgl. z. B. [108]) ist pauschal ohne Unterschied der mittleren Bindungsenthalpie der (C=O)-Bindung (z. B. 179 kcal/mol für Ketone, vgl. [107]) vs. der mittleren Bindungsenthalpie der (C–O)-Bindung (z. B. 85 kcal/mol vgl. [107]) verrechnet. Im konstitutionell entsprechenden Übergang in der olefinischen Reihe



sind nur bindende Elektronenpaare beteiligt, und dementsprechend ist der Unterschied zwischen den mittleren Bindungsenthalpie-Werten der olefinischen (C=C)-Bindung (z. B. 146 kcal/mol [107]) und der (C–C)-Bindung (z. B. 83 kcal/mol [107]) geringer. Aus dieser Perspektive ist die π -Bindung des Carbonyl-Systems nicht eigentlich 'stärker' als die π -Bindung des Olefin-Systems, sondern das Carbonyl-System erfährt gegenüber dem (C–O)-Bindungs-System eine zusätzliche Stabilisierung der nichtbindenden Elektronenpaare am O-Bindungszentrum, welche beim Olefin-System entfällt. Pauschalisierend könnte man sagen, dass die Chemie der Carbonyl-Verbindungen ((Keton \rightleftharpoons Enol)-Gleichgewichte!) nicht bloss eine durch die Bindungen bestimmte, sondern vor allem auch eine 'lone-pair-determinierte' Chemie ist. Beziehungen dieser Art gibt es in der Chemie organischer Moleküle zuhauf (vgl. ein in [109] erörterter und entsprechend interpretierter Fall); sinngemäss analoge und pädagogisch besonders relevante Beispiele weist die Chemie jener Stickstoff-Verbindungen auf, in deren Reaktionen (z. B. *Wolff-Kishner*-Reduktionen, Reaktionen von Diazonium-kationen) sich 'wegen der hohen Bindungsenergie von $:\text{N} \equiv \text{N}:$ (!)' sehr leicht molekularer N_2 freisetzt. Insoweit sich die 'besondere Stärke' der Carbonyl-Doppelbindung in der Lage der Tautomerie-Gleichgewichte carbonylbaltiger Purine und Pyrimidine widerspiegelt, ist die Herausschälung der Bedeutung der nicht-bindenden Elektronenpaare des Carbonyl-O-Atoms für die Chemie der Carbonyl-Verbindungen auch ein Beitrag zur qualitativ-chemischen Rationalisierung der WC-Paarung und damit letztlich auch ein Kommentar zur chemischen Aetiologie des Strukturtyps der natürlichen Nucleinsäuren.

5. Abschliessende Bemerkungen, insbesondere auch zur Frage, inwiefern die Erfahrungen über homo-DNS zum Verständnis der Struktur der natürlichen Oligonucleotid-Systeme beitragen. – Die vielleicht wichtigste Lektion, die sich aus der Chemie der homo-DNS für Chemie und Biologie ergeben hat, dürfte der durch diese Arbeiten erstmals erbrachte, experimentelle Beleg dafür sein, dass selektive und effiziente Basenpaarung zwischen Purinen und Pyrimidinen keine exklusive Eigenschaft des Strukturtyps der Ribofuransyl-oligonucleotide ist, also kein Privileg jenes Oligonucleotid-Rückgrats darstellt, das die Natur als Träger der genetischen Programme der lebenden Materie benützt. Nicht nur erwies sich homo-DNS als ein auf chemischer Ebene ebenfallsfunktionierendes Paarungssystem, sondern auch als eines, in welchem die *WC*-Basenpaarung beträchtlich *stärker* ist als bei den natürlichen Nucleinsäuren. Dies bedeutete seinerzeit⁶⁵⁾ eine echte Überraschung, homo-DNS erwies sich als das erste *autonome*, künstliche Paarungssystem; autonom in dem Sinne, als es keine intersystemische Paarung mit der natürlichen DNS eingeht⁶⁶⁾. Dies, zusammen mit der Eigenschaft der homo-DNS, Paarungsregeln zu befolgen, die zum Teil verschieden sind von jenen, welche für die DNS gültig sind, hat uns gelehrt, dass nebst der chemischen Komplementarität der Basenpartner vor allem die konstitutionellen, konformationellen und konstellativen Eigenschaften der Rückgrate das Paarungsverhalten von Nucleinsäure-Systemen bestimmen. Heute, d. h. ein Jahrzehnt nach Beginn unserer durch aetiologische Fragestellungen motivierten Arbeiten über alternative Nucleinsäuren, ist die Einsicht, dass effiziente und selektive Basenpaarung des DNS-Typs keineswegs ein Monopol der in den natürlichen Nucleinsäuren vorkommenden Rückgrat-Systeme darstellt, nicht nur weit verbreitet, sondern auch durch eine eindruckliche Zahl von künstlichen Paarungssystemen überzeugend belegt. Ein wesentliches Verdienst hierfür kommt jener Forschungsrichtung zu, die nicht aus aetiologischer, sondern aus medizinisch-chemischer Motivierung heraus seit ebenfalls rund einem Jahrzehnt künstliche Paarungssysteme zu entwickeln versucht, von denen nun aber zusätzlich gefordert wird, dass sie als potentielle Antisense-Wirkstoffe vor allem die Eigenschaft der intersystemischen Paarung mit DNS und RNS besitzen. Als das in funktioneller Hinsicht bislang wohl eindrucklichste Erzeugnis chemischer Antisense-Forschung darf die sogenannte 'PNA' [111] gelten, die als Rückgrat eine neurale Oligoamid-Struktur aufweist und dadurch mit besonderem Nachdruck illustriert, wie hoch die strukturelle Variationsbreite der Rückgrate von funktionierenden Basenpaarungs-Systemen anscheinend ist⁶⁷⁾. Dieser Befund ist auch aus aetiologischer Sicht von hohem Interesse. Es ist übrigens bemerkenswert, wie aetiologisch und medizinisch-chemisch motivierte Suche nach alternativen Paarungssystemen unabhängig von ihrer unterschiedlichen Zielsetzung sich u. a. in einer gemeinsamen chemischen Problemstellung finden, indem beide sich mit den strukturellen Voraussetzungen kooperativer

⁶⁵⁾ Erste Vorträge über Paarungseigenschaften von homo-DNS-Oligonucleotiden wurden in den Jahren 1988/89 gehalten [110]. Über den im Herbst 1990 erreichten Stand der Arbeiten, vgl. [5] (Vortrag an der Universität Frankfurt am 9.11.1990; bei der im Vorspann von [5] vorkommenden Jahresangabe handelt es sich um einen Druckfehler) – sowie [134] (Vortrag an der Jahrestagung der Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Ärzte, Berlin, 22.–25.9.1990).

⁶⁶⁾ Diese Feststellung bezieht sich auf Paarungsversuche mit homochiralen homo-DNS-Sequenzen der *D*-Reihe und komplementären DNS-Sequenzen der *D*-Reihe.

⁶⁷⁾ Über einen (bis ca. 1995) vollständigen Überblick über die im Zuge der Antisense-Forschung hergestellten modifizierten Oligonucleotid-Rückgrate vgl. z. B. [112].

Basenpaarung zu befassen haben, und dadurch beide mit ihren Ergebnissen zum vertieften Verständnis der komplexen stereochemischen Problematik der molekularen Informationsspeicherung beitragen. Hierauf ist schon im Teil I dieser Reihe [1] hingewiesen worden. In absehbarer Zeit wird sich zu dieser aetiologisch-medizinal-chemischen Interessensgemeinschaft eine dritte Interessentin zugesellen, nämlich die molekulare Nanotechnologie.

Die homo-DNS hat uns des weiteren gelehrt, dass Doppelhelix und Basenpaarung sich nicht gegenseitig bedingen, wie man vor Kenntnis des Verhaltens der homo-DNA anzunehmen geneigt war, sondern dass *WC*-Basenpaarung in Duplexen auch mit *quasi*-linearer Leiterstruktur der beiden Oligonucleotid-Stränge einhergehen kann. Der bisher wohl massgebendste Versuch, auf qualitativer Ebene den Habitus der DNS-Doppelhelix geometrisch explizite zu rationalisieren, stammt von *Caladine* und *Drew* [113][114]. Die Autoren gehen von der Annahme aus, dass die (sich durch Hydrophobie begründende) Basen-Stapelung im Duplex der entscheidende formgebende Faktor der Doppelhelix sei, und sie argumentieren, dass es zwei Möglichkeiten gebe, im DNS-Rückgrat-Gerüst mit einer Periodizität von *ca.* 6 Å den Basenabstand auf den optimalen Stapelabstand von *ca.* 3,3 Å zu bringen: erstens, die im Sinne eines einfachen Leiter-Modells linear gedachten Rückgrat-Achsen gegenüber parallel gedachten Basenpaar-Achsen um *ca.* 30° zu neigen, oder zweitens, die Basenpaar-Achsen progressiv um eine orthogonal zu den Basenpaaren stehende Achse (= Helix-Achse) um je *ca.* 30° zu drehen, bei gleichzeitig helikalem Umlauf der Rückgrat-Achsen. Von diesen beiden Möglichkeiten käme nur jene der Helikalisierung in Frage, weil die um *ca.* 30° geneigte Leiterstruktur sich infolge sterischer Hinderung zwischen benachbarten Zucker- und Basen-Bausteinen verbiete. Erst durch die qualitative Konformationsanalyse der Paarungsfunktion für das konformationell viel einfachere homo-DNS-System ist die mitbestimmende Rolle der Fünfgliedrigkeit des Ribofuranosyl-Rings der DNS für die Begründung des Habitus der (rechtsdrehenden) DNS-Doppelhelix klar geworden (endocyclischer Torsionswinkel $\delta > 60^\circ$ vgl. eingehende Darlegung im Teil I [1]). Wiewohl die *quasi*-lineare Leiterstruktur von homo-DNS-Duplexen, die auf (Purin-Pyrimidin)-Paarungen des *WC*-Modus beruhen, durch eine umfassende NMR-Strukturanalyse an zumindest einem Beispiel gut belegt ist (vgl. Teil IV [4]), besteht leider nach wie vor Unkenntnis über das Ausmass der in solchen (homochiralen) homo-DNS-Duplexen zweifellos bestehenden⁶⁸⁾, durch helikale Verdrillung der Rückgrat-Stränge zustande kommenden Abweichung von der Linearität. Diese Ungewissheit wird nur auf *Röntgen*-strukturanalytischem Wege zu beheben sein⁶⁹⁾.

Die Analyse der *konstellativen*³⁴⁾ Voraussetzungen der *WC*-Basenpaarung aus der vereinfachten Sicht von *quasi*-linearen homo-DNS-Doppelsträngen hat übrigens einen

⁶⁸⁾ Strikte Linearität eines antiparallel orientierten Doppelstranges ist streng genommen nur bei homochiralen Strängen entgegengesetzten Chiralitätssinns mit isomorphen zentro-symmetrisch angeordneten Basenpaarungs-Partnern zu erwarten [82]. In Duplexen mit homochiralen Strängen gleichen Chiralitätssinns wird sich jede innerhalb der Repetiereinheit auftretende Abwendung von einer idealisiert-linearen Paarungs-Konformation durch 'Oligomerisation dieser Abweichung' als Helikalisierung des (antiparallelen) Doppelstranges auswirken.

⁶⁹⁾ Leider konnte das von zwei verschiedenen Arbeitsgruppen bearbeitete Problem der Interpretation der *Röntgen*-Strukturdaten des gut kristallisierenden homo-DNS-Duplexes [ddGlc(C-G-A-A-T-T-G-G)]₂ bislang nicht gelöst werden (vgl. [115]).

Aspekt der DNS- (und vor allem auch RNS)-Struktur aufgedeckt, der unseres Wissens bislang nicht explizite erkannt gewesen zu sein scheint, nämlich der einfache geometrische Zusammenhang zwischen der *Neigung* von Rückgrat- zu Basenpaar-Achsen und der Bevorzugung der DNS und (vor allem) RNS, Basenpaarung in *antiparalleler* (statt *paralleler*) Anordnung der Duplex-Stränge einzugehen (vgl. [3] sowie *Fig. 16* im *Kap. 3.2*). Wir glauben, dass die sowohl konstitutionell, als auch konformationell bedingte Neigung der beiden Achsen eine der wichtigen Parameter für die Rationalisierung der Paarungsstruktur und der Paarungseigenschaften von *WC*-Paarungssystemen darstellt [116]⁷⁰⁾, eine Einsicht übrigens, die sich in voller Schärfe erst durch die Bearbeitung der Pyranosyl-RNS eingestellt hat [80–82], ihre Ursprünge jedoch in den Arbeiten über die homo-DNS besitzt. Dass der besagte Parameter in der Literatur in den Beschreibungen von DNS- und RNS-Strukturen bislang keine Rolle spielte, ist nicht verwunderlich, da die Erkennung seines Einflusses auf *quasi*-lineare Systeme einfach, auf hochgradig helikale Systeme indessen schwieriger ist.

Die homo-DNS hat uns auch eine Lehre erteilt, welche die organisch-chemische Stereochemie angeht. Es ist dies der eigentlich überraschende Erfolg des zu Beginn der Arbeiten angestellten Versuchs, mit einer für den Strukturtyp oligonucleotidischer Paarungssysteme problemgerecht erweiterten, im übrigen aber klassischen, qualitativen Konformationsanalyse die Paarungskonformation(en) der homo-DNS vorauszusagen [1][117]. Die problemspezifischen Erweiterungen betreffen einerseits eine Hierarchie in den Phosphodiester-Konformationen und andererseits das generelle Kriterium für die Auffindung der Paarungskonformation oligonucleotidischer Einzelstränge, nämlich die Forderung nach *konformationeller* Repetitivität der *konstitutionellen* Repetiereinheiten. Zusammen mit dem Kriterium der Minimisierung der Anzahl der 1,5-Repulsionen ('*Newman*-Spannung' [117]), gelingt es auf der Ebene der idealisierten Konformationen (sämtliche Einfachbindungs-Bezirke idealisiert gestaffelt) für Hexo(oder Pento)pyranosyl-oligonucleotid-Stränge Paarungs-Konformationstypen zu erkennen und damit arbeitshypothetisch sich eine Meinung darüber zu bilden, ob für ein gegebenes Oligonucleotid-System die Eigenschaft der Basenpaarung erwartet werden darf oder nicht. Die Zuversicht dieser Aussage gründet in der Erfahrung über eine nunmehr beträchtliche Zahl von Fällen, bei welchen sich diese Art qualitativer konformationsanalytischer Paarung-Prognose bewährt hat (vgl. [4][15][80][118]). Ihr Erfolg hängt natürlich damit zusammen, dass Hexo(und Pento)pyranosyl-Systeme konformationsanalytisch im Vergleich zu entsprechenden Furanosyl-Systemen besonders einfach sind. Gerade deshalb ist bemerkenswert, dass auf der Ebene solch qualitativer Analysen die an Pyranosyl-Systemen gewonnenen Prognosen sich bei situationsgerechter Umsicht auf entsprechende Furanosyl-Systeme extrapolieren lassen. So entspricht die Paarung-Konformation mit *bis-synclinaler* Phosphodiester-Gruppierung eines homo-DNS-Einzelstrangs ganz eindeutig dem Konformationstyp von A-DNS- (und somit auch RNS)-Duplexen (vgl. [1]).

⁷⁰⁾ Während für idealisiert-lineare Duplexe dieser Neigungsparameter sich quasi selbst definiert, verlangt seine Übertragung auf ein helikales Duplex-System eine Approximation der Rückgrat-Achse als Tangente am Basenansatz der konstitutionell-konformationellen Repetiereinheit des helikalen Strangs. Über eine entsprechende Definition des Parameters und Charakterisierung *Röntgen*-Strukturdaten von DNS-Duplexen des A- und B-Typs vgl. eine gemeinsam mit *M. Egli*, *P. Lubini*, *S. Pitsch*, *M. Bolli* und *R. Micura* demnächst zu publizierende Arbeit [70].

Dadurch wird evident, dass die *konstellativen*^{34,70}) Voraussetzungen der WC-Basenpaarung und die *konformationellen* Gegebenheiten im Ribofuranosyl-Einzelstrang (Zugehörigkeit eines repetitiven, d. h. paarungsfähigen Konformationstyps zum Ensemble der geringst gespannten Konformationstypen) bei den natürlichen Nucleinsäuren (insbesondere RNS) in kooperativer Weise zugunsten der Fähigkeit zur Basenpaarung sich ergänzen. *Solch konstellativ-konformative Kooperativität ist die eigentliche Voraussetzung für effiziente Basenpaarung in Paarungssystemen.* Der Extremfall von Kooperativität der genannten Art würde dann vorliegen, wenn (stabilste) Strangkonformation im Duplex und (stabilste) Konformation von nicht-gepaartem Einzelstrang identisch wären, d. h. der Übergang der Einzelstränge vom ungepaarten in den gepaarten Zustand keinerlei konformationelle Veränderung in den Strängen verlangen würde. Ein derart extremes Ausmass von *Präorganisation* des Einzelstranges in Richtung auf die Strang-Konformation im duplexierten Zustand entspricht naturgemäss kaum je der Wirklichkeit; die Analyse des Extremfalls schärft indessen den Blick für den Einfluss der Präorganisation der Einzelstrang-Struktur auf die Stärke der Basenpaarung in konstitutionell unterschiedlichen Paarungssystemen. So haben wir die bei der homo-DNS im Vergleich zur DNS (und RNS) durchwegs höhere Paarungsstärke auf einen höheren Grad der Präorganisation des homo-DNS-Einzelstrangs zurückgeführt (vgl. [3] und [1]); diese einfache, qualitative Deutung eines zweifellos auf komplexe Weise zustande kommenden Verhaltensmusters bezieht seine Rechtfertigung aus dem bekannten Unterschied des konformationellen Verhaltens eines (relativ starren) Pyranosyl-Rings gegenüber dem (viel flexibleren) Furanosyl-Ring.

Die anscheinend erstmals am Beispiel der homo-DNS experimentell begründete Vorstellung von einer Paarungsverstärkung durch Einzelstrang-Präorganisation hat eine Reihe von medizinisch ausgerichteten Antisense-Forschungsprojekten angeregt, in welchen dem Präorganisationkriterium eine massgebende Rolle beim Entwurf modifizierter oligonucleotidischer Paarungssysteme zukam. Allen voran ist hier die von *Leumann* und Mitarbeitern [119][120] entworfene 'Bicyclo-DNA' zu nennen, deren systematische paarungsschemische Untersuchung wesentlich neue Einsichten über den Zusammenhang zwischen Struktur und Basenpaarung innerhalb des strukturellen Umkreises der natürlichen Nucleinsäuren gezeitigt hat [121]; Initiativen analoger Ausrichtung stammen aus der *Ciba*-Gruppe [122] und den Arbeitsgruppen von *Matteucci* [123] und *Herdewijn* [124].

Die Frage nach dem Zusammenhang zwischen konformationeller Präorganisation und Basenpaarungsvermögen hat in unserem Laboratorium eine von *H.-J. Roth* initiierte und von *Ling Peng* [11] durchgeführte Studie nach sich gezogen, in welcher am Beispiel von Oligonucleotiden des 1',2'-seco-DNS-Typs die Erwartung experimentell illustriert wird, dass *nicht-cyclische* Analoga der natürlichen Nucleinsäuren schwächere oder überhaupt keine Paarungssysteme darstellen sollten, denn die Einzelstränge solcher Systeme sind im Vergleich zu den Ribofuranosyl-Systemen konformationell nicht nur nicht präorganisiert, sondern infolge Fehlen des Ringes konformationell deorganisiert. In der Tat zeigten weder ein (1:1)-Gemisch von 1',2'-seco-d(A₁₀) und 1',2'-seco-d(T₁₀), noch die formal (antiparallel) selbstkomplementäre Sequenz 1',2'-seco-d(AT)₆ unter Standardbedingungen Anzeichen einer Basenpaarung [11]. Es ist allerdings zu bemerken, dass eine seco-DNS, in welcher gegenüber DNS nichts anders verändert als eine Ringbindungen durch zwei H-Atome ersetzt ist, aus sterischen Gründen nicht eigentlich ein

relevantes Testsystem für die Frage darstellt⁷¹), ob nichtcyclische Zucker-Derivate als Rückgrat von Paarungssystemen dienen könnten. In der Literatur sind im aetiologischen Kontext zwar mehrere solche Systeme vorgeschlagen, aber leider experimentell entweder gar nicht, oder nur ungenügend⁷²), geprüft worden. Dass man sich übrigens bezüglich der Frage eines Vergleichs cyclischer mit nicht-cyclischen Rückgrat-Systemen konstitutionell nicht einfach beliebig weit von den natürlichen Oligonucleotid-Systemen entfernen kann, zeigt das Beispiel der oligo-amidischen 'PNA' von *Nielsen* [111], die trotz nicht-cyclischer Konstitution sowohl mit DNS, als auch mit sich selbst effiziente WC-Paarung eingeht. Hiezu ist im vorliegenden Zusammenhang allerdings nicht zu übersehen, dass die konstitutionelle Repetiereinheit dieses Paarungssystems eindeutig die Anlage zu einer quasi-cyclischen Strukturfixierung infolge eines ausgeprägten *Gauche*-Effekts erkennen lässt, und dass man dies sowohl in PNA-Modellierungsstudien [127], als auch in der Röntgen-Strukturanalyse eines PNA-Paarungskomplexes [128] bestätigt findet. Die nicht zuletzt auch aetiologisch relevante Frage (vgl. [129]), unter welchen konstitutionellen Voraussetzungen auch eigentliche oligopeptidische Ketten als nicht-cyclische Rückgrate von Basenpaarung-Systemen dienen könnten, ist bislang experimentell nicht systematisch angegangen worden; über bemerkenswerte Befunde in dieser Richtung ist indessen kürzlich von *Diederichsen* berichtet worden [130].

Neuland in chemischer Hinsicht hat die homo-DNS durch die in ihr vorkommenden (Purin-Purin)-Paarungen erschlossen. Hierin unterscheidet sie sich auf deutliche und gleichzeitig instruktive Weise von den natürlichen Oligonucleotid-Systemen: die Paarungselektivitätsregeln der homo-DNS sind verschieden von jenen der DNS und RNS. Die für die letzteren so typische (Guanin-Guanin)-Selbstpaarung nach dem *H*-Modus in sogenannten Guanin-Tetraden beobachtet man in der homo-DNS-Reihe nicht; dafür findet man die (Guanin-Guanin)-Selbstpaarung nach dem *RH*-Modus in Duplexen; es ist dies ein Paarungstyp, den man in der DNS-Reihe bislang anscheinend nur in Triplexen angetroffen hat (vgl. Teil III [3]). Mit der (Adenin-Adenin)-Selbstpaarung nach dem *RH*-Modus in den beiden Reihen verhält es sich analog. Der Trend, der sich bei der Untersuchung der homo-DNS offenbarte, dass nämlich Hexopyranosyl-(6' → 4')-oligonucleotid-Systeme zum *RH*-Paarungsmodus neigen, hat sich in der Folge bei der Untersuchung der Allo- bzw. Altrapyransosyl-Systeme noch verstärkt gezeigt (vgl. [15]). Wie das Verhalten der homo-DNS bezüglich der (Guanin-Guanin)-Selbstpaarung andeutet, geht diese Präferenz auf Kosten des *H*-Paarungsmodus. Zu den hierfür verantwortlichen, bislang nicht schlüssig georteten konstellativen Gründen dürfte eine im Vergleich zu DNS vermutlich höhere Präferenz der homo-DNS für die antiparallele Strang-Orientie-

⁷¹) Dementsprechend zeitigt eine qualitative Konformationsanalyse nach bewährten Kriterien ein Ergebnis, wonach im Ensemble der geringst gespannten (idealisierten) Konformation einer Repetiereinheit des 1',2'-seco-d-Systems keine repetitive (d. h. paarungsfähige) Konformation vorkommt (vgl. [11a]).

⁷²) Die von der *Orgel-Millerschen* Schule [125] in aetiologischem Zusammenhang vorgeschlagene, von Glycerin abgeleiteten Oligonucleotid-Einheit ist von *Schneider* und *Benner* [126] synthetisiert und als einzelner 'Rückgrat-Mismatch' in ein DNS-Oligonucleotid eingebaut worden. Die dabei beobachtete Erniedrigung des T_m -Werts des entsprechenden Duplexes [126] ist zwar als Hinweis darauf zu werten, dass ein aus lauter solchen Einheiten aufgebautes System nicht mit DNS paaren würde, womit aber ungewiss bleibt, ob es ein für sich autonomes Paarungssystem ist oder nicht.

rung in Paarungskomplexen gehören, die ihrerseits Folge der Neigung von Rückgrat- und Basenpaar-Achsen ist (vgl. oben sowie *Fig. 16* und Teil III [3]).

Unter den (Purin-Purin)-Paarungen der homo-DNS ist die erstmals in dieser Reihe dokumentierte dreizählige *WC*-Paarung zwischen Guanin und Isoguanin sowie zwischen 2,6-Diaminopurin und Xanthin die wohl interessanteste (*Kap. 3.4*). Das Interesse an dieser Paarung bezieht sich einerseits auf den implizite erbrachten Nachweis, das Isoguanin mit seinem *3H*-Tautomer als Paarungspartner auftreten kann, und andererseits auf die nicht selbstverständliche Tatsache, dass die geometrischen Dimensionen eines (Purin-Purin)-*WC*-Paars mit der Paarungskonstellation zweier Oligonucleotid-Stränge vereinbar sind. Die hier aufkommende Frage betrifft die zahlreichen Literatur-Erörterungen über oligonucleotidische Basenpaarung implizite Erwartung, dass eine DNS-Doppelhelix nur mit einem bestimmten Bereich der Länge eines Basenpaars vereinbar sein wird, dass diese Länge um so grösser wird sein können, je grösser die Distanz eines vollen Helix-Umgangs ist, und dass es schliesslich – dieser Teil der Erwartung ergibt sich aus der Beschäftigung mit der homo-DNS – für (idealisiert) lineare Leiterstrukturen keine Beschränkung der Länge eines Basenpaares geben sollte. Der ($C(1')-C(1'')$)-Interstrang-Abstand eines *WC*-(Purin-Pyrimidin)-Paars liegt um 11 Å, der eines *WC*-(Purin-Purin)-Paars um 13,5 Å. Unterstellt man der DNS-Doppelhelix, dass ihre Dimensionen einer konsekutiven Folge von (Purin-Pyrimidin)-Basenpaaren im *WC*-Modus optimal entsprechen, d. h. in ihr der optimale Basenstapelung-Abstand mit einem Spannungsminimum im Rückgrat bei zugehöriger Helix-Steighöhe einhergeht, so würde man bei Ersatz der (Purin-Pyrimidin)- durch die längeren (Purin-Purin)-*WC*-Paare infolge rein geometrisch bedingter Verringerung der Helix-Steighöhe eine Kompression in der Basenstapelung, bzw. eine konformationelle Spannung im Rückgrat zu erwarten haben.

Die aetiologisch wichtige Frage, ob das DNS-, bzw. RNS-Rückgrat mit lauter (Purin-Purin)-*WC*-Basenpaaren eine stabile Doppelhelix zu bilden vermöchte, und wie sich gegebenenfalls eine solche mit der (Purin-Pyrimidin)-*WC*-Doppelhelix strukturell und funktionell vergleiche, sollte auf experimentellem Wege beantwortbar sein⁷³). Diese Frage ist deshalb wichtig, weil ihre Beantwortung gegebenenfalls zu zeigen vermag, dass der Strukturtyp der Ribofuranosyl-(5' → 3')-Doppelhelix unter den beiden paarungsschemisch möglichen *WC*-Varianten den (Purin-Pyrimidin)-Paarungstyp gegenüber dem (Purin-Purin)-Paarungstyp die erstere konstellativ zu selektionieren vermag. Durch diese Argumentation kommt übrigens auch die Frage auf, ob nicht das zur natürlichen RNS isomere Paarungssystem der Furanosyl-(5' → 2')-oligonucleotide, das im Vergleich zur RNS ein viel schwächeres (Purin-Pyrimidin)-Paarungssystem darstellt [132]⁷⁴), auf Grund seines 'längeren' Rückgrats nicht eine besondere Affinität für (Purin-Purin)-*WC*-Basenpaarung aufweisen könnte. Auch diese Frage ist experimentell abklärbar und auch

⁷³) In orientierenden Untersuchungen haben wir in unserem Laboratorium festgestellt [131][48], dass in einem (1:1)-Gemisch von $d(G_6)$ und $d(I_6)$ unter Bedingungen, da die entsprechenden homo-DNS-Hexameren einen stabilen Duplex bilden, keine entsprechende Paarung erfolgt (UV, CD); ebenso wurde beim (potentiell selbstkomplementären) Hexameren $d(G-G-G-I-I-I)$ keine Paarung beobachtet. Weil wir bei diesen Experimenten die Frage nach dem möglichen Einfluss der (Guanin-Guanin)-Selbstpaarung nicht speziell geprüft haben, betrachten wir die Ergebnisse als vorläufig.

⁷⁴) Die meisten Arbeiten über die Paarungseigenschaften des isomeren (5' → 2')-Ribofuranosyl-Systems sind bislang in der (aetiologisch nicht eigentlich relevanten) DNS-Reihe (3'-Deoxy-Reihe) gemacht worden [133].

ihre Beantwortung würde zum obligaten Pensum einer experimentellen chemischen Aetiologie des Strukturtyps der natürlichen Nucleinsäuren gehören. Bereits in der Frühzeit des Fragens nach dem Ursprung der Nucleinsäuren hatten *Crick* [134] und *Orgel* [135] den Gedanken geäußert, dass zu Beginn der biologischen Entwicklung ein (Purin-Purin)-Paarungstyp anstelle der (Purin-Pyrimidin)-Paarung hätte agiert haben können, und beide Autoren haben dabei an das Paar Adenin-Hypoxanthin gedacht⁷⁵⁾. Aus heutiger Sicht würde man, wenn schon, dann eher an die viel effizienteren (isomorphen) Paare Guanin-Isoguanin sowie 2,6-Diaminopurin-Xanthin (vgl. *Kap. 4.3*) und zudem vielleicht, wie oben erwähnt, an die isomere ($5' \rightarrow 2'$)-überbrückte RNS-Alternative denken. Wie ungelöst dieser nicht nur aetiologisch, sondern auch paarungstheoretisch interessante Fragenkomplex vor uns liegt, zeigt auch die jüngst in der Pyranosyl-RNS-Reihe gemachte Erfahrung, wonach dort im auffallenden Unterschied zur homo-DNS-Reihe die (Purin-Purin)-WC-Paarung deutlich weniger stark ist als die (Purin-Pyrimidin)-Paarung [82].

Schliesslich ist daran zu erinnern, dass der hiermit abschliessend beschriebenen experimentellen Studie über die homo-DNS im Rahmen unserer Untersuchungen zu einer chemischen Aetiologie des Strukturtyps der natürlichen Nucleinsäuren nur der Rang einer Modell-Studie zukommt, denn der Baustein der homo-DNS, die 2'-3'-Dideoxyglucose, hat nach den unserer Arbeit zugrunde gelegten Kriterien zur Beurteilung des Selbstkonstituierung-Potentials der Bausteine von Nucleinsäure-Alternativen keine Chance, als ein unter natürlichen vorbiologischen Bedingungen verfügbar gewesener Naturstoff eingeschätzt zu werden. Die entsprechenden, aus aetiologischer Sicht relevanteren Untersuchungen über die von den voll hydroxylierten (und damit potentiell natürlichen) Zucker-Bausteinen, Gluco-, Allo- und Altopyranose sich ableitenden Hexopyranosyl-Nucleinsäure-Alternativen werden Gegenstand des Teils VI dieser Reihe sein [15]. Im Rückblick erscheint es glückhaft, dass wir seinerzeit unsere Arbeiten mit dem Modell-System homo-DNS begonnen hatten, denn in der Folge hat sich gezeigt, dass wir die Eigenschaften der potentiell natürlichen Hexopyranosyl- und Pentopyranosyl-Nucleinsäure-Alternativen ohne Kenntnis von jenen der homo-DNS nicht hätten einordnen und schon gar nicht hätten (einigermassen) verstehen können.

Die Arbeit wurde unterstützt vom *Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung* sowie von der *Ciba-Geigy AG*, Basel, und der *Firmenich SA*, Genf. *J. D. Dumit* verdanken wir Literaturangaben über frühe *Röntgen*-Strukturanalysen von Purin- und Pyrimidin-Derivaten.

Experimenteller Teil

Allgemeines. Lsgm. zur Extraktion: tech. Qualität, destilliert. Reagenzien: Falls nicht anders vermerkt *Fluka*, jeweils höchste Qualität. Abs. MeCN, abs. CH₂Cl₂, abs. Pyridin: dest. über CaH₂; abs. THF: dest. über Na. 'Long-chain alkylamine controlled pore glass' (H₂N-CPG: *Sigma* No. L-8638). *Fractosil 500*: *Merck*. Reversed phase Kieselgel *Rp 18* zur Flash-Chromatographie (FC): *Baker*, Bonded Phase-OCTADECYL (C18). DC: Kieselgel-60-F₂₅₄-Platten, *Merck*; Färbereagenzien: Tauch-Lsg.: A) 10 ml Anisaldehyd, 10 ml konz. H₂SO₄, 2 ml AcOH, 180 ml EtOH; B) 10,5 g Cer(IV)-sulfat, 21 g Phosphormolybdänsäure, 60 ml konz. H₂SO₄, 900 ml H₂O; C) 0,2 g Ninhydrin, 100 ml BuOH, 30 ml AcOH; D) 2 g Ammoniummolybdat-tetrahydrat, 20 ml H₂O, 6 ml konz.

⁷⁵⁾ Diese 'Adenin-Hypoxanthin-Hypothese' wird heute noch von *Zubay* [136] vertreten.

HCl, 10 ml HClO₄, 160 ml Aceton; E) 1% Zinn(II)-chlorid in 10% HCl. Durch Eintauchen in Lsg. A oder B und anschließendem Erhitzen mit einem Fön zeigten alle zuckerhaltigen Verbindungen einen Blau-Färbung. Amine wurden analog mit Lsg. C nachgewiesen. Zum Nachweis von phosphorhaltigen Verbindungen wurde das DC zuerst über der Bunsenbrennerflamme während ca. 10 min ausgeglüht und nach dem Abkühlen zuerst in Lsg. D und nachher Lsg. E getaucht (Blau-Färbung). FC: Kieselgel 60 (220–440 mesh ASTM, Fluka). HPLC: Pharmacia-LKB Gradientenpumpe Mod. 2249 mit ABI-Kratos-Spectroflow 757 UV/VIS-Detektor und Tarkan W + W Recorder 600 oder HP 3396A Integrator. Reversed-phase (RP)-HPLC: anal.: Aquapore Rp 300, 4,6 × 220 mm (Brownlee Labs.); präp.: Aquapore octyl, 10 × 250 mm (Brownlee Labs.); Eluens A: 0,1M Et₃NHOAc in H₂O, pH 7,0; Eluens B: 0,1M Et₃NHOAc in MeCN/H₂O 4:1, pH 7,0. DEAE-Ionenaustausch (IA)-HPLC: anal.: Nucleogen DEAE 60-7, 4 × 125 mm (Macherey-Nagel), präp. Nucleogen DEAE 60-7, 4 × 125 mm (Macherey-Nagel); Eluens C: 20 mm KH₂PO₄ in H₂O/MeCN 2:1, pH 6,0; Eluens D: 20 mm KH₂PO₄, 1M KCl in H₂O/MeCN 4:1, pH 6,0. IA-HPLC: Mono Q HR 5/5 (Pharmacia); Eluens E: 0,01M NaOH in H₂O; Eluens F: 0,01M NaOH, 1M NaCl in H₂O. Schmp: nicht korrigiert, im offenen Rohr gemessen. $[\alpha]_D^{25}$: $d = 10$ cm, $c = g/100$ ml. UV: λ_{\max} [nm] (ϵ). IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]. NMR: ¹H: δ -Werte in ppm rel. zu TMS als internem Standard (in D₂O rel. zu Natrium-3-(trimethylsilyl)propan-1-sulfonat, (DSS) als externem Standard), Multiplizitäten aus DEPT-Spektren ermittelt; ³¹P: δ -Werte in ppm rel. zu 85% H₃PO₄ als externem Standard. EI-MS (Ionisationsenergie 70 eV): m/z (Intensität in %, ggf. Zuordnung), FAB⁺-MS (Matrix-Lsgm.): m/z (Intensität in %, ggf. Zuordnung). Abkürzungen: CPG: 'controlled pore glass', DCC: *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid, 3-NOBA: *m*-Nitrobenzyl-alkohol.

1. Exper. zu Fig. 4. 2,6-Dichloro-9-(4',6'-di-O-benzoyl-2',3'-dideoxy- β -D-glucopyranosyl)purin (**3**). Zu einer Lsg. von 5,4 g (27,7 mmol) 2,6-Dichloropurin (**2**) und 12,5 ml (51,2 mmol) *N,O*-Bis(trimethylsilyl)acetamid in 300 ml MeCN wurden unter Ar-Atmosphäre 15,4 g (41,6 mmol) Methyl-4,6-di-O-benzoyl-2,3-dideoxy- α -D-glucopyranosid (**1**) und 9,9 ml (54,7 mmol) Trimethylsilyl-trifluoromethansulfonat gegeben. Man liess während 5 h bei 65° rühren. Anschliessend wurde die Lsg. bei 4° aufbewahrt. Über Nacht bildeten sich plättchenförmige Kristalle, welche abfiltriert und getrocknet wurden: 10,7 g (71%) **3** als farbloser Festkörper. Nach Einengen der Mutterlauge und Kristallisation des Rückstandes aus AcOEt erhielt man **3a** in Form feiner Nadeln, welche abfiltriert und getrocknet wurden. Aus dem Filtrat konnte **3b** durch Chromatographie an Kieselgel (Elution mit AcOEt) isoliert werden.

Daten von 3: Schmp. 194–195°. DC (Kieselgel, Hexan/AcOEt 1:1): R_f 0,43. $[\alpha]_D^{25} = -3.7$ (CHCl₃, $c = 0,90$). UV (MeOH): 202, 214, 229, 273. IR (CHCl₃): 3040w, 3010w, 1710s, 1595m, 1540s, 1490w, 1450w, 1360m, 1320m, 1275s, 1260s, 1250w, 1110s, 1030m, 970w, 880w. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): 1,94–2,07, 2,30–2,47, 2,63–2,70 (3m, 2 H–C(2')), 2 H–C(3''); 4,31 (ddd, $J = 2,4, 5,7, 10,2$, H–C(5'')); 4,47 (dd, $J = 5,7, 12,3$, 1 H–C(6'')); 4,68 (dd, $J = 2,4, 12,3$, 1 H–C(6'')); 5,22 (dt, $J = 4,6, 10,2$, H–C(4'')); 5,99 (dd, $J = 2,7, 10,8$, H–C(1'')); 7,37–7,63 (m, 6 arom. H); 7,98–8,07 (m, 4 arom. H); 8,34 (s, H–C(8)); Differenz-NOE: 4,31 (H–C(5'')) → 5,99 (H–C(1'')); 5,99 (H–C(1'')) → 4,31 (H–C(5'')), 8,34 (H–C(8)); 8,34 (H–C(8)) → 5,99 (H–C(1'')). ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): 28,08, 30,43 (2t, C(2'), C(3'')); 63,32 (t, C(6'')); 67,33 (d, C(4'')); 78,14, 81,92 (2d, C(1'), C(5'')); 128,58, 128,58 (2d, arom. C); 129,29, 129,53 (2s, arom. C); 129,20, 129,75 (2d, arom. C); 130,91 (s, C(5)); 133,25, 133,60 (2d, arom. C); 143,18 (d, C(8)); 152,12, 152,29, 153,22 (3s, C(2), C(4), C(6)); 165,42, 166,19 (2s, CO). FAB-MS (positiv; 3-NOBA): 529 (9, [M + H]⁺), 527 (13, [M + H]⁺), 340 (57), 191 (15), 189 (23), 154 (33), 136 (30), 105 (100), 89 (17), 77 (33). Anal. ber. für C₂₅H₂₀Cl₂N₄O₅ (527,37): C 56,9, H 3,8, Cl 13,4, N 10,6; gef.: C 56,7, H 3,8, Cl 13,4, N 10,8.

Daten von 3a: Schmp. 154°. DC (Kieselgel, Hexan/AcOEt 1:1): R_f 0,43. IR (KBr): 3120w, 2960w, 1725s, 1705s, 1600s, 1560s, 1280s. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): 2,14–2,23, 2,28–2,44, 3,10–3,20 (3m, 2 H–C(2')), 2 H–C(3''); 4,38 (ddd, $J = 3,6, 5,4, 7,8$, H–C(5'')); 4,51 (dd, $J = 3,6, 12,0$, 1 H–C(6'')); 4,82 (dd, $J = 7,8, 12,0$, 1 H–C(6'')); 5,28 (dt, $J = 3,6, 5,4$, H–C(4'')); 5,99 (dd, $J = 3,6, 7,2$, H–C(1'')); 7,40–7,63 (m, 6 arom. H); 7,98–8,12 (m, 4 arom. H); 8,43 (s, H–C(8)). ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): 24,67, 25,19 (2t, C(2'), C(3'')); 62,19 (t, C(6'')); 66,63 (d, C(4'')); 74,42, 80,30 (2d, C(1'), C(5'')); 128,59 (d, arom. C); 129,26, 129,45 (2s, arom. C); 129,61, 129,78 (2d, arom. C); 131,10 (s, C(5)); 133,47, 133,57 (2s, arom. C); 144,89 (d, C(8)); 152,01, 152,56, 153,60 (3s, C(2), C(4), C(6)); 165,54, 166,27 (2s, CO). FAB-MS (positiv; 3-NOBA): 1057 (2, [2M + H]⁺), 1055 (4, [2M + H]⁺), 1053 (3, [2M + H]⁺), 530 (4, [M + H]⁺), 529 (12, [M + H]⁺), 527 (17, [M + H]⁺), 339 (59), 307 (12), 191 (22), 189 (37), 154 (71), 136 (62), 124 (14), 120 (12), 105 (100), 95 (13), 89 (22), 77 (32).

Daten von 3b: DC (Kieselgel, Hexan/AcOEt 1:1): R_f 0,21. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): 1,94–2,08, 2,31–2,56, 2,70–2,79 (3m, 2 H–C(2')), 2 H–C(3''); 4,36 (ddd, $J = 2,4, 6,0, 10,1$, H–C(5'')); 4,45 (dd, $J = 6,0, 12,0$, 1 H–C(6'')); 4,69 (dd, $J = 2,4, 12,0$, 1 H–C(6'')); 5,21 (dt, $J = 4,6, 10,1$, H–C(4'')); 6,14 (dd, $J = 2,2, 10,6$, H–C(1'')); 7,39–7,64 (m, 6 arom. H); 7,97–8,08 (m, 4 arom. H); 8,53 (s, H–C(8)). ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃):

28,26, 29,92 (2*t*, C(2'), C(3')); 63,38 (*t*, C(6')); 67,14 (*d*, C(4')); 78,14, 83,46 (2*d*, C(1'), C(5')); 121,20 (*s*, C(5)); 128,46, 128,61 (2*d*, arom. C); 129,23, 129,42 (2*s*, arom. C); 129,68, 129,74 (2*d*, arom. C); 133,34, 133,66 (2*d*, arom. C); 144,79 (*s*, C(6)); 146,77 (*d*, C(8)); 153,69 (*s*, C(2)); 163,93 (*s*, C(4)); 165,38, 166,23 (2*s*, CO).

2. Exper. zu Fig. 5. 2,6-Dibenzyl-oxy-9-(2',3'-dideoxy-β-D-glucopyranosyl)purin (**4**). In einem 100-ml-Dreihalskolben mit KPG-Rührer wurden 30 ml PhCH₂OH unter N₂-Gegenstrom mit 0,600 g (26,1 mmol) Na versetzt, welches innert 30 min unter leichter Wärme-Entwicklung abreagierte. Nach Zugabe von 1,00 g (1,90 mmol); über Nacht i. HV. getrocknet) **3** entstand eine gallertartige, farblose Suspension, welche bei 80° während 4 h intensiv gerührt wurde. Man liess auf RT. abkühlen und chromatographierte das Gemisch an Kieselgel (CH₂Cl₂/MeOH 20:1 zur Elution von PhCH₂OH, CH₂Cl₂/MeOH 9:1 zur Elution des Produkts). Die produkthaltigen Fraktionen wurden eingengt und i. HV. getrocknet: 0,769 g (88%) **4** als fester, farbloser Schaum. DC (Kieselgel, CHCl₃/MeOH 9:1): R_f 0,39. UV (MeOH): 207, 237 (sh), 244, 264. IR (CHCl₃): 3400w, 3060w, 3030w, 3000m, 2980w, 2950w, 2930w, 2875w, 1610s, 1590s, 1505w, 1495w, 1465m, 1455m, 1440m, 1400s, 1345s, 1305s, 1250s, 1135m, 1095s, 1040s, 1030m, 1000w, 985w, 940w, 910w, 695m, 640w. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): 1,68–1,83, 2,00–2,11, 2,21–2,29 (3*m*, 2 H–C(2'), 2 H–C(3')); 2,84 (br. *s*, HO–C(6')); 3,19 (*d*, *J* = 3,9, HO–C(4')); 3,55 (*dt*, *J* = 4,5, 9,3, H–C(5')); 3,77 (br. *m*, H–C(4')); 3,84 (br. *m*, 2 H–C(6')); 5,44, 5,60 (2*s*, 2 CH₂(Bn)); 5,73 (*m*, H–C(1')); 7,26–7,38 (*m*, 6 arom. H); 7,34–7,49 (*m*, 4 arom. H); 7,91 (*s*, H–C(8)). ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): 30,48, 31,43 (2*t*, C(2'), C(3')); 63,03 (*t*, C(6')); 66,39 (*d*, C(4')); 68,79, 69,76 (2*t*, CH₂(Bn)); 81,30, 81,67 (2*d*, C(1'), C(5')); 117,31 (*s*, C(5)); 128,08, 128,17, 128,49 (3*d*, arom. C); 36,02, 136,74 (2*s*, arom. C); 138,55 (*d*, C(8)); 153,27, 161,01, 161,38 (3*s*, C(2), C(4), C(6)). FAB-MS (positiv; 3-NOBA): 925 (9, [2*M* + H]⁺), 463 (79, [M + H]⁺), 333 (97), 307 (17), 154 (90), 91 (100).

2,6-Diallyloxy-9-(2',3'-dideoxy-β-D-glucopyranosyl)purin (**5**). In einem 100-ml-Zweihalskolben mit Rückflusskühler wurden 20 ml Allyl-alkohol bei 0° und unter N₂-Gegenstrom mit 0,600 g (26,1 mmol) Na versetzt. Nachdem dieses unter heftiger Wärme-Entwicklung abreagiert hatte, wurde die entstandene Lsg. *via* Teflon-Schlauch zu 1,316 g **3** (2,50 mmol; 3 × aus je 10 ml Toluol eingengt und über Nacht i. HV. getrocknet) transferiert. Es wurde bei 50° gerührt. Nach 15 min bildete sich eine dicke, weisse Suspension. Diese wurde mit weiteren 10 ml Allyl-alkohol verdünnt und während 4 h bei 50° weitergerührt. Man liess auf RT. abkühlen und chromatographierte die gesamte Lsg. an Kieselgel (CH₂Cl₂/MeOH 20:1 zur Elution des Allyl-alkohols, CH₂Cl₂/MeOH 9:1 zur Elution des Produkts). Die produkthaltigen Fraktionen wurden eingengt und i. HV. getrocknet: 0,789 g (87%) **5** als fester, farbloser Schaum. DC (Kieselgel, CHCl₃/MeOH 9:1): R_f 0,33. [α]_D²⁵ = –15,7 (CHCl₃, *c* = 1,02). UV (MeOH): 237 (sh), 242, 264. IR (CHCl₃): 3610w, 3090w, 3040w, 3000m, 2950m, 2930m, 2880w, 1610s, 1590s, 1510m, 1470m, 1455m, 1445m, 1395s, 1335s, 1250s, 1180w, 1160w, 1135m, 1190s, 1040s, 1000m, 985m, 960w, 935m. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 1,74–1,84, 2,16–2,21, 2,29–2,36 (3*m*, 2 H–C(2'), 2 H–C(3')); 2,47, 2,73 (2 br. *m*, HO–C(4'), HO–C(6')); 3,60 (*dt*, *J* = 4,6, 9,2, H–C(5')); 3,82 (*m*, H–C(4')); 3,89 (*m*, 2 H–C(6')); 4,91 (*dt*, *J* = 1,4, 5,8, CH₂(Allyl)); 5,08 (*dt*, *J* = 1,4, 5,7, CH₂(Allyl)); 5,28 (*ddd*, *J* = 1,3, 2,6, 10,4, 1 H–C(Allyl)); 5,30 (*ddd*, *J* = 1,3, 2,6, 10,4, 1 H–C(Allyl)); 5,42 (*ddd*, *J* = 1,5, 3,0, 17,2, 1 H–C(Allyl)); 5,46 (*ddd*, *J* = 1,5, 3,0, 17,2, 1 H–C(Allyl)); 5,78 (*m*, H–C(1')); 6,12 (*ddt*, *J* = 5,8, 10,4, 17,2, 1 H–C(Allyl)); 6,14 (*ddt*, *J* = 5,7, 10,4, 17,2, 1 H–C(Allyl)); 7,92 (*s*, H–C(8)). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): 30,63, 31,33, (2*t*, C(2'), C(3')); 62,77 (*t*, C(6')); 66,09 (*d*, C(4')); 67,90, 68,81 (2*t*, CH₂(Allyl)); 81,30, 81,79 (2*d*, C(1'), C(5')); 117,00 (*s*, C(5)); 118,37, 118,77 (2*t*, CH₂(Allyl)); 132,25, 132,62 (2*d*, CH(Allyl)); 138,62 (*d*, C(8)); 153,10, 160,89, 161,20 (3*s*, C(2), C(4), C(6)). FAB-MS (positiv; 3-NOBA): 363 (57, [M + H]⁺), 233 (100), 193 (10), 153 (10), 136 (16).

9-(2',3'-Dideoxy-β-D-glucopyranosyl)xanthin (**6**). In einem 100-ml-Zweihalskolben wurden 235 mg Pd (10%) auf Aktivkohle in 5 ml EtOH suspendiert. Die Suspension wurde wiederholt i. V. entgast und mit N₂ geflutet. Nach dem letzten Evakuieren wurde mit H₂ begast. Es wurde während 30 min bei RT. gerührt. Eine Lsg. von 1,7 g (3,68 mmol) **4** in 5 ml CH₂Cl₂ und 20 ml EtOH wurde mit der Spritze zugegeben. Nach 3 h Rühren bei RT. wurde die Lsg. i. V. entgast und mit N₂ geflutet. Der Katalysator wurde abfiltriert und gut mit H₂O gewaschen. Das Filtrat wurde auf 20 ml eingengt. Aus dieser Lsg. kristallisierte über Nacht **6** aus. Die Mutterlauge wurde auf 10 ml eingengt und durch Stehenlassen bei 4° zur Kristallisation gebracht. Die beiden Kristallisate wurden vereinigt und i. HV. getrocknet: 0,796 g (77%) **6** als mikrokristallines, farbloses Pulver. Schmp. 320° (Zers.). DC (Kieselgel, BuOH/H₂O/AcOH 5:3:2): R_f 0,53. [α]_D²⁵ = –50,2 (DMSO, *c* = 1,04). UV (0,01*M* Kaliumphosphat, pH 7,0): 247 (11200), 276 (9890). UV (0,01*M* AcONa, pH 4,0): 233 (9390), 261 (10100). UV (0,01*M* NaHCO₃, pH 9,0): 247 (11300), 276 (10000). IR (KBr): 3380m, 3320m, 3180w, 3140w, 3070m, 2980w, 2950w, 2930m, 2910w, 2890w, 2850w, 1750s, 1710s, 1605m, 1570m, 1435w, 1440m, 1420m, 1385m, 1310m, 1290m, 1235m, 1215m, 1185m, 1175m, 1155m, 1050m, 1035m, 1020m, 1005m, 955m, 915m, 860m, 830m, 780m, 750m, 705m, 655m, 580m, 560m. ¹H-NMR (300 MHz, (D₆)DMSO): 1,45–1,57, 1,98–2,51 (2*m*, 2 H–C(2'), 2 H–C(3')); 3,37–3,51 (H₂O, darunter: H–C(4'), H–C(5'), H–C(6')); 3,67 (*d*, *J* = 11,4, 1 H, H–C(4'/5'/6')); 4,57 (br. *s*, OH); 4,94 (br. *s*, OH); 5,47

(*dd*, $J = 1.8, 10.2$, H–C(1')); 7,89 (*s*, H–C(8)); 10,77 (*br. s*, NH); 11,3–12,3 (*br. s*, NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, (D_6) DMSO): 28,69, 31,41 (2*d*, C(2'), C(3')); 60,75 (*t*, C(6')); 63,73 (*d*, C(4')); 80,77, 82,58 (2*d*, C(1'), C(5')); 115,32 (*s*, C(5)); 133,89 (*d*, C(8)); 140,64 (*s*, C(4)); 151,17 (*s*, C(2)); 157,90 (*s*, C(6)). FAB-MS (positiv; Glycerin): 565 (2, $[2M + H]^+$), 375 (5, $[M + \text{Glycerin} + H]^+$), 283 (12, $[M + H]^+$), 185 (100, $[2 \text{ Glycerin} + H]^+$), 153 (15), 75 (25). Anal. ber. für $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_5$ (282,26): C 46,8, H 5,0, N 19,9; gef: C 46,6, H 5,0, N 20,1.

2,6-Diamino-9-(4',6'-di-O-benzoyl-2',3'-dideoxy- β -D-glucopyranosyl)purin (8). Zu einer Lsg. von 3,5 g (6,64 mmol) **3** in 60 ml 2-Methoxyethanol wurden 4,31 g (66,4 mmol) NaN_3 gegeben. Nach 2 h Röhren bei 40° wurde die Lsg. in 250 ml AcOEt aufgenommen und mit 20 ml halbges. NaHCO_3 -Lsg. extrahiert. Die org. Phase wurde mit 150 ml H_2O gewaschen. Die vereinigten wässr. Phasen wurden 2mal mit je 400 ml AcOEt rückextrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden über Glaswatte filtriert und zu einem farblosen Festkörper eingengt.

Eine Suspension von 1,7 g Pd (10%) auf Aktivkohle in 10 ml AcOEt wurde im Vakuum sorgfältig entgast und wiederholt mit N_2 geflutet. Nach dem letzten Entgasen wurde mit H_2 geflutet und während 30 min gerührt. Das Rohprodukt von oben wurde in wenig CH_2Cl_2 angelöst und in 30 ml AcOEt mit einer Spritze zur Katalysatorsuspension gegeben. Das Gemisch wurde während 18 h unter H_2 -Atmosphäre bei RT. gerührt. Anschliessend wurde mehrmals evakuiert und mit N_2 geflutet. Der Katalysator wurde abfiltriert und mit AcOEt gewaschen. Das Filtrat wurde eingengt und an Kieselgel zunächst mit $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 20:1 und dann mit $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9:1 chromatographiert. Nach Einengen der Produktfraktionen und Trocknen i. HV. erhielt man 2,86 g (88%) **8** als festen, farblosen Schaum.

Aus einem Ansatz, welcher ausgehend von 1,26 g (2,39 mmol) **3** wie oben beschrieben durchgeführt wurde, konnte das Zwischenprodukt **7** nach der Extraktion durch Kristallisation aus 5 ml AcOEt gereinigt werden. Man erhielt 0,957 g (74%) **7** als farblose, grobkörnige Kristalle, welche sich beim Abfiltrieren und Trocknen i. HV. hellorange färbten.

Daten von 7: DC (Kieselgel, Hexan/AcOEt 1:1): R_f 0,39. $[\alpha]_D^{25} = -30,6$, (CHCl_3 , $c = 1,03$). IR (CHCl_3): 3030*w*, 3000*w*, 2960*w*, 2880*w*, 2160 (sh), 2130*s*, 1720*s*, 1600*s*, 1570*m*, 1500*w*, 1450*w*, 1405*m*, 1360*s*, 1315*m*, 1280*m*, 1260*s*, 1180*w*, 1110*m*, 1070*w*, 1030*w*, 1000*w*. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): 1,91–2,03, 2,23–2,40, 2,60–2,67 (3*m*, 2 H–C(2'), 2 H–C(3')); 4,27 (*ddd*, $J = 2,6, 5,5, 9,9$, H–C(5')); 4,45 (*dd*, $J = 5,5, 12,2$, H–C(6')); 4,65 (*dd*, $J = 2,6, 12,2$, H–C(6')); 5,21 (*dt*, $J = 4,5, 9,9$, H–C(4')); 5,92 (*dd*, $J = 2,8, 10,7$, H–C(1')); 7,37–7,48 (*m*, 4 arom. H); 7,52–7,62 (*m*, 2 arom. H); 7,97–8,06 (*m*, 4 arom. H); 8,12 (*s*, H–C(8)). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): 28,20, 30,40 (2*t*, C(2'), C(3')); 63,42 (*t*, C(6')); 67,49 (*d*, C(4')); 77,98, 81,55 (2*d*, C(1'), C(5')); 121,36 (*s*, C(5)); 128,38, 128,55 (2*d*, arom. C); 129,39, 129,62 (2*s*, arom. C); 129,73, 133,17, 133,53 (3*d*, arom. C); 140,88 (*d*, C(8)); 153,21, 153,92, 156,20 (3*s*, C(2), C(4), C(6)); 165,42, 166,19 (2*s*, CO). FAB-MS (positiv; 3-NOBA): 541,5 (8, $[M + H]^+$), 339 (24), 203 (23), 132 (81), 105 (100), 77 (33).

Daten von 8: DC (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9:1): R_f 0,43. $[\alpha]_D^{25} = -11,4$ (CHCl_3 , $c = 0,86$). UV (MeOH): 221, 256 (sh), 280. IR (CHCl_3): 3520*w*, 3410*m*, 3010*w*, 2960*w*, 1720*s*, 1625*s*, 1600*s*, 1475*w*, 1450*s*, 1410*m*, 1315*m*, 1270*s*, 1110*m*. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): 1,89–2,00, 2,21–2,33, 2,56–2,64 (3*m*, 2 H–C(2'), 2 H–C(3')); 4,25 (*ddd*, $J = 2,7, 5,4, 10,2$, H–C(5')); 4,44 (*dd*, $J = 5,4, 12,2$, H–C(6')); 4,65 (*dd*, $J = 2,7, 12,2$, H–C(6')); 4,83 (*br. s*, NH_2); 5,20 (*dt*, $J = 4,4, 10,2$, H–C(4')); 5,61 (*br. s*, NH_2); 5,78 (*dd*, $J = 5,6, 8,0$, H–C(1')); 7,36–7,61 (*m*, 6 arom. H); 7,98–8,05 (*m*, 4 arom. H); 8,06 (*s*, H–C(8)). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): 28,42, 30,40 (2*t*, C(2'), C(3')); 63,70 (*t*, C(6')); 67,88 (*d*, C(4')); 77,65, 80,90 (2*d*, C(1'), C(5')); 114,30 (*s*, C(5)); 128,35, 128,51 (2*d*, arom. C); 129,53 (*s*, arom. C); 129,74, 133,05, 133,40 (3*d*, arom. C); 135,28 (*d*, C(8)); 151,50, 155,96, 160,04 (3*s*, C(2), C(4), C(6)); 165,51, 166,26 (2*s*, CO). FAB-MS (positiv; 3-NOBA): 489 (81, $[M + H]^+$), 151 (100), 136 (28), 105 (71), 89 (11), 77 (20).

2,6-Diamino-9-(2',3'-dideoxy- β -D-glucopyranosyl)purin (9). Eine Lsg. von 1,15 g (2,37 mmol) **8** in 20 ml konz. NH_3/MeOH wurde während 4 d bei RT. stehengelassen. Die Lsg. wurde vollständig eingengt. Der Rückstand wurde in 80 ml siedendem MeOH gelöst und bei 4° zur Kristallisation gebracht. Das Produkt kristallisierte in Form farbloser Nadeln, welche abfiltriert und i. HV. getrocknet wurden. Die Mutterlauge wurde zu einem farblosen Öl eingengt, in 10 ml MeOH gelöst und bei 4° aufbewahrt. Über Nacht bildeten sich feine Kristalle, welche mit dem Erstkristallat vereinigt und bei 50° i. HV. getrocknet wurden. Man erhielt 0,597 g (90%) **9** als farblofes Pulver. Schmp. 256–258° (Zers.). DC (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 4:1): R_f 0,16. $[\alpha]_D^{25} = -14,0$ (DMSO, $c = 1,12$). UV (H_2O): 214 (24700), 254 (9430), 279 (10500). IR (KBr): 3320*s* (*br.*), 3170*s* (*br.*), 2920*w*, 2880*w*, 1670*m*, 1630*s*, 1595*s*, 1490*m*, 1410*s*, 1350*w*, 1290*w*, 1210*w*, 1005*s*. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, (D_6) DMSO): 1,52–2,33 (*m*, 2H–C(2'), 2 H–C(3')); 3,30–3,51 (Signalhaufen, 3 H, H–C(4'/5'/6')); teilweise verdeckt von H_2O -Signal); 3,68 (*m*, 1 H, H–C(4'/5'/6')); 4,57 (*br. t*, $J = 5,9$, HO–C(6')); 4,93 (*br. d*, $J = 5,4$, HO–C(4')); 5,48 (*dd*, $J = 1,7, 11,0$, H–C(1')); 5,89 (*br. s*, NH_2); 6,73 (*br. s*, NH_2); 7,91 (*s*, H–C(8)). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, (D_6) DMSO): 29,4, 31,8 (2*t*, C(2'), C(3')); 60,9 (*t*, C(6')); 64,2 (*d*, C(4')); 79,8, 83,2 (2*d*, C(1'), C(5')); 112,8 (*s*, C(5)); 135,1 (*d*, C(8)); 151,2, 156,2, 160,2 (3*s*, C(2), C(4), C(6)). FAB-MS (positiv; 3-NOBA): 561 (6, $[2M + H]^+$), 399 (19), 307 (30), 281 (76,

$[M + H]^+$, 166 (13), 154 (100), 151 (62), 136 (79). Anal. ber. für $C_{11}H_{16}N_6O_3 \cdot 0.8 H_2O$ (294,70): C 44,8, H 6,0, N 28,5; gef.: C 45,0, H 6,1, N 28,2.

6-Amino-2-chloro-9-(2',3'-dideoxy- β -D-glucopyranosyl)purin (10). Eine Lsg. von 10,7 g (20,4 mmol) **3** in 140 ml ges. $NH_3/MeOH$ wurde im Autoklaven während 6 h auf 80° erhitzt. Die Lsg. wurde eingengt, der Rückstand in 300 ml MeOH gelöst und an 50 g Kieselgel adsorbiert. Dieses wurde an weiteren 240 g Kieselgel mit $CH_2Cl_2/MeOH$ (Gradient von 19:1 auf 4:1) chromatographiert. Die Produktfraktionen wurden vollständig eingengt und aus MeOH kristallisiert: 4,77 g (78%) **10** als farbloser Festkörper. Schmp. > 300°. DC (Kieselgel, $CH_2Cl_2/MeOH$ 3:1): R_f 0,53. IR (KBr): 3420s, 3330s, 3200s, 2970w, 2940w, 2910w, 2870w, 1650s, 1600s, 1500w, 1450m, 1305s, 1255m, 1070s, 950m, 920m. 1H -NMR (300 MHz, $(D_6)DMSO$): 1,63–1,67, 1,99–2,12, 2,24–2,31 (3m, 2 H–C(2'), 2 H–C(3')); 3,39–3,51 (Signalhaufen, 3 H, H–C(4'/5'/6')); 3,69 (m, 1 H, H–C(4'/5'/6')); 4,55 (t, $J = 5,7$, HO–C(6')); 4,96 (d, $J = 4,8$, HO–C(4')); 5,62 (dd, $J = 1,8, 11,0$, NH_2); 8,39 (s, H–C(8)). ^{13}C -NMR (75 MHz, $(D_6)DMSO$): 29,31, 31,40 (2t, C(2'), C(3')); 60,89 (t, C(6')); 64,13 (d, C(4')); 80,41, 83,16 (2d, C(1'), C(5')); 117,63 (s, C(5)); 139,42 (d, C(8)); 149,92, 153,08, 156,71 (3s, C(2), C(4), C(6)). FAB-MS (positiv; 3-NOBA): 302 (13, $[M + H]^+$), 300 (36, $[M + H]^+$), 289 (13), 281 (21), 170 (23), 170 (63), 154 (100), 136 (89), 120 (18), 107 (34), 89 (31), 77 (31).

6-Amino-2-(benzyl-oxy)-9-(2',3'-dideoxy- β -D-glucopyranosyl)purin (11). In 20 ml $PhCH_2OH$ wurden unter N_2 -Gegenstrom 0,46 g (20 mmol) Na eingetragen, welches bei 60° innert 40 min abreagierte. Zur entstandenen Lsg. wurden 1,22 g (4,1 mmol) **10** gegeben. Man liess 5 h bei 60° rühren. Anschliessend liess man die orange Lsg. auf RT. abkühlen und chromatographierte an Kieselgel ($CH_2Cl_2/MeOH$ 9:1). Die Produktfraktionen wurden eingengt und aus MeOH kristallisiert: 1,15 g (77%) **11** als farbloser Festkörper. Schmp. 233–234°. DC (Kieselgel, $CHCl_3/MeOH$ 3:1): R_f 0,71. UV (0,01M KH_2PO_4 , pH 7,0): 210, 250 (sh), 266 (4930). IR (KBr): 3330s (br.), 3190s (br.), 2940m, 2895w, 1670s, 1660s, 1640s, 1610s, 1595s, 1485s, 1400s, 1390s, 1285m, 1060m, 990m, 790w, 800m. 1H -NMR (300 MHz, $(D_6)DMSO$): 1,57–1,70, 1,94–1,99, 2,06–2,13, 2,25–2,38 (4m, 2 H–C(2'), 2 H–C(3')); 3,37–3,52 (Signalhaufen, 3 H, H–C(4'/5'/6')); 3,70 (m, 1 H, H–C(4'/5'/6')); 4,55 (t, $J = 5,8$, HO–C(6')); 4,94 (d, $J = 4,8$, HO–C(4')); 5,32 (s, $CH_2(Bn)$); 5,58 (dd, $J = 1,8, 11,0$, H–C(1')); 7,28–7,48 (m, 7 H, arom. H, NH_2); 8,15 (s, H–C(8)). ^{13}C -NMR (75 MHz, $(D_6)DMSO$): 29,23, 31,61 (2t, C(2'), C(3')); 60,94 (t, C(6')); 64,19 (d, C(4')); 67,63 (t, $CH_2(Bn)$); 80,40, 83,16 (2d, C(1'), C(5')); 115,12 (s, C(5)); 127,57, 127,97, 128,18 (3d, arom. C); 137,43 (s, arom. C); 137,58 (d, C(8)); 150,69, 156,67, 161,01 (3s, C(2), C(4), C(6)). FAB-MS (positiv; 3-NOBA): 372 (100, $[M + H]^+$), 307 (13), 242 (92), 217 (23), 154 (83), 152 (26), 147 (13), 136 (78), 131 (10), 120 (17), 107 (32), 95 (19), 91 (96).

2-(Allyloxy)-6-amino-9-(2',3'-dideoxy- β -D-glucopyranosyl)purin (12). In 70 ml Allyl-alkohol wurden unter Ar bei 0° 3,22 g (140 mmol) Na gelöst. Dann gab man 3,63 g (1,21 mmol) **10** zu und liess bei 65° während 2 h rühren, wobei das Edukt in Lsg. ging und ein weisser Niederschlag ausfiel. Das Gemisch wurde danach auf RT. abgekühlt, auf eine Kieselgelsäule aufgetragen und 'flash'-chromatographiert ($CH_2Cl_2/MeOH$ 10:1). Die produkthaltigen Fraktionen wurden vereinigt und eingengt. Der so erhaltene Festkörper wurde in 20 ml siedendem MeOH gelöst und bei RT. kristallisiert. Nach dem Trocknen i. HV. erhielt man 3,46 g (1,08 mmol, 89%) **12** als weisse Kristalle. Schmp. 233–234°. DC (Kieselgel, $CH_2Cl_2/MeOH$ 6:1): R_f 0,30. UV (MeOH): 210 (30200), 267 (14000). IR (KBr): 3360 (sh), 3340s, 3180s (br.), 3010 (sh), 2950m, 2930m, 2870m, 1670s, 1590s, 1510m, 1480s, 1460m, 1435m, 1420 (sh), 1390s, 1365 (sh), 1355 (sh), 1330s, 1315s, 1275s, 1250m, 1230m, 1215m, 1210m, 1170 (sh), 1160m, 1140m, 1125m, 1100s, 1080s, 1060s, 1040m, 1020m, 995s, 990s, 975 (sh), 950m, 935m, 920 (sh), 915m, 890w, 870w, 855w, 835w, 805w, 795m, 745m, 700m, 650m, 605m. 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$): 1,57–1,67, 1,97–2,01, 2,08–2,12, 2,26–2,36 (4m, 2 H–C(2'), 2 H–C(3')); 3,34–3,51 (m, 3 H, H–C(4',5',6')); 3,70 (ddd, $J = 1,7, 5,7, 11,8$, H–C(6')); 4,53 (t, $J = 5,9$, HO–C(6')); 4,77 (ddd, $J = 1,4, 1,5, 5,4$, $CH_2(Allyl)$); 4,93 (d, $J = 5,2$, HO–C(4')); 5,21 (ddd, $J = 1,4, 3,1, 10,5$, 1 H, $CH_2(Allyl)$); 5,37 (ddd, $J = 1,7, 3,4, 17,2$, 1 H, $CH_2(Allyl)$); 5,58 (dd, $J = 2,1, 11,1$, H–C(1')); 6,06 (ddt, $J = 5,3, 10,5, 17,3$, 1 H, $CH(Allyl)$); 7,28 (br. s, NH_2); 8,14 (s, H–C(8)). ^{13}C -NMR (75 MHz, $CDCl_3$): 29,3, 31,6 (2t, C(2'), C(3')); 61,0 (t, C(6')); 64,2 (d, C(4')); 66,7 (t, $CH_2(Allyl)$); 80,3 (d, C(5')); 83,1 (d, C(1')); 115,1 (s, C(5)); 116,9 (t, $CH_2(Allyl)$); 133,9 (d, $CH(Allyl)$); 137,5 (d, C(8)); 150,7, 156,7, 160,9 (3s, C(2), C(4), C(6)). FAB-MS (positiv; 3-NOBA): 323 (30, $[M + H]^+$), 322 (100, M^+), 321 (20), 320 (11), 193 (18), 192 (96), 191 (38), 155 (16), 154 (46), 152 (21), 151 (13), 138 (20), 137 (32), 136 (41), 135 (12), 107 (17), 90 (13), 89 (16), 77 (16). Anal. ber. für $C_{18}H_{21}N_5O_4$ (371,40): C 52,3, H 6,0, N 21,8; gef.: C 52,4, H 6,0, N 21,7.

9-(2',3'-Dideoxy- β -D-glucopyranosyl)isoguanin (13). Eine Lsg. von 150 mg **11** (0,40 mmol) in 30 $EtOH/H_2O$ 5:1 wurde in Gegenwart von 100 mg Pd (10%) auf Aktivkohle während 48 h unter H_2 -Atmosphäre gerührt. Anschliessend wurde die Lsg. über *Celite* filtriert. Das Filtrat wurde eingengt und der Rückstand aus $MeOH/H_2O$ kristallisiert: 88 mg (77%) **13** als farbloser Festkörper. Schmp. > 300° (Zers.). DC (Kieselgel, $i-PrOH/H_2O$ /konz. $NH_3(aq.)$ 20:2:1): R_f 0,16. $[\alpha]_D^{25} = +28,2$ (DMSO, $c = 0,65$). UV (H_2O): 246 (8960), 291 (11200). IR (KBr): 3600–2800 (br.), 3140s, 2940m, 1690s, 1620s, 1530m, 1475w, 1400w, 1300w, 1210w, 1105m, 1075s, 1045s. 1H -NMR

(300 MHz, (D₆)DMSO): 1,57–2,19 (*m*, 2 H–C(2'), 2 H–C(3')); 3,17–3,71 (*m*, H–C(4'), H–C(5'), 2 H–C(6')); 4,56 (*br. t*, *J* = 5,3, HO–C(6')); 4,93 (*d*, *J* = 4,8, HO–C(4')); 7,48 (*br. s*, NH₂); 7,99 (*s*, H–C(8)); 11,02 (*br. s*, NH). ¹³C-NMR (75 MHz, (D₆)DMSO): 29,2, 31,5 (2*t*, C(2'), C(3')); 60,9 (*t*, C(6')); 64,1 (*d*, C(4')); 79,6, 83,0 (2*d*, C(1'), C(5')); 108,9 (*s*, C(5)); 136,6 (*d*, C(8)); 152,4, 152,6, 156,2 (3*s*, C(2), C(4), (6)). FAB-MS (positiv; 3-NOBA): 282 (4, [*M* + H]⁺), 152 (4), 93 (100), 75 (32). Anal. ber. für C₁₁H₁₅N₅O₄ · 0,4 H₂O (288,48): C 46,0, H 5,4, N 24,1; gef.: C 45,8, H 5,2, N 24,3.

3. Exper. zu Fig. 6. 9-(4',6'-Di-O-Benzoyl-2',3'-dideoxy-β-D-glucopyranosyl)hypoxanthin (**16**). Hypoxanthin (**14**) (1,36 g, 10,0 mmol) wurde über Nacht i. HV. getrocknet und anschliessend in 20 ml abs. MeCN suspendiert. Nach Zugabe von 12,2 ml (50 mmol) *N,O*-Bis(trimethylsilyl)acetamid wurde während 20 min unter Rühren auf 100° erhitzt. Dann wurde eine Lsg. von 1,85 g (5,0 mmol) **1** in 20 ml abs. MeCN zu der hellgelben Lsg. hinzugefügt. Nach Zugabe von 2,3 ml (12,5 mmol) Trimethylsilyl-trifluoromethansulfonat wurde 22 h bei 100° gerührt, auf RT. abgekühlt und auf ein Volumen von 7 ml eingengt. Der Rückstand wurde mit 50 ml CH₂Cl₂ und 50 ml ges. NaHCO₃-Lsg. versetzt. Der entstandene Niederschlag wurde über *Celite* abfiltriert, die org. Phase abgetrennt, 2mal mit je 30 ml ges. NaHCO₃- und NaCl-Lsg. extrahiert und die wässr. Phasen mit CH₂Cl₂ rückextrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden getrocknet (MgSO₄) und eingengt. Der gelbe, schaumige Feststoff wurde an Kieselgel mit CH₂Cl₂/MeOH 9:1 chromatographiert. Die produkthaltigen Fraktionen wurden zusammengefasst und i. HV. getrocknet. Man erhielt 1,36 g (2,87 mmol, 57%) eines 2:1:1 Gemisches **16/16a/16b**. Die weitere Auftrennung erfolgt durch Lösen in 3 ml CHCl₃ und Fällen in 100 ml einer Mischung von Hexan/Aceton 2:1. Nach dreimaliger Wiederholung erhielt man 869 mg (1,83 mmol, 37%) reines **16**. Schmp. 256°. DC (Kieselgel, CH₂Cl₂/MeOH 9:1): R_f 0,46. [α]_D²⁵ = + 12,6 (CHCl₃, *c* = 0,55). UV (CHCl₃): 241 (12300), 254 (*sh*), 260 (*sh*). IR (KBr): 3400w (*br.*, *sh*), 3160w, 3115w, 3105w, 3050m, 3005w, 2970w, 2935w, 2900w, 2800w, 1720s, 1700s (*sh*), 1600 (*sh*), 1595m, 1585 (*sh*), 1555m, 1510m, 1495w, 1475w, 1450m, 1420m, 1380w, 1345m, 1315m, 1277s, 1250s, 1230m, 1210m, 1190 (*sh*), 1180m, 1120s, 1115 (*sh*), 1085s, 1070 (*sh*), 1027m, 1000m, 975w, 950w, 925m, 885w, 860w, 845w, 820w, 805w, 795m, 725 (*sh*), 715s, 685m, 670w, 645w, 640w, 610m, 590w, 570w, 530w. ¹H-NMR (300 MHz, (D₆)DMSO): 2,07 (*m*, 1 H–C(3')); 2,21 (*m*, 1 H–C(2')); 2,43 (*dt*, *J* = 4,2, 12,3, 1 H–C(3')); 2,67 (*dq*, *J* = 1,8, 11,2, 1 H–C(2')); 4,38 (*dt*, *J* = 3,4, 1,0, 1 H–C(5')); 4,47 (*m*, 2 H–C(6')); 5,15 (*dt*, *J* = 4,2, 10,0, 1 H–C(4')); 6,00 (*dd*, *J* = 2,1, 11,4, 1 H–C(1')); 7,52 (*m*, 4 arom. H); 7,67 (*m*, 2 arom. H); 7,95 (*m*, 4 arom. H); 8,11 (*s*, H–C(2)); 8,42 (*s*, H–C(8)); 12,45 (*br. s*, NH). ¹³C-NMR (75 MHz, (D₆)DMSO): 27,5, 28,4, (2*t*, C(2'), C(3')); 63,2 (*t*, C(6')); 67,6 (*d*, C(4')); 76,3 (*d*, C(5')); 80,4 (*d*, C(1')); 124,0 (*s*, C(5)); 128,7, 129,1, 129,2, 133,3, 133,5 (5*d*, arom. C); 138,2 (*d*, C(8)); 146,0 (*d*, C(2)); 147,9 (*s*, C(4)); 156,5 (*s*, C(6)); 164,8, 165,3 (2*s*, CO). FAB-MS (positiv; 3-NOBA): 497 (12, [*M* + Na]⁺), 475 (39, [*M* + H]⁺), 339 (37), 289 (12), 137 (100), 105 (60), 77 (25). Anal. ber. für C₂₅H₂₂N₄O₆ (474,47): C 63,3, H 4,7, N 11,8, O 20,2; gef.: C 63,2, H 4,6, N 12,0, O 20,2.

9-(2',3'-Dideoxy-β-D-glucopyranosyl)hypoxanthin (**17**). Es wurden 140 mg (0,295 mmol) **16** in 10 ml konz. NH₃ in MeOH gelöst und 24 h bei RT. stehengelassen. Anschliessend wurde die Lsg. eingengt und der verbleibende weisse Feststoff in 10 ml CH₂Cl₂ und 10 ml H₂O aufgenommen. Nach Phasentrennung wurde 8mal mit je 10 ml CH₂Cl₂ extrahiert, die wässr. Phase eingengt und aus EtOH/H₂O bei 4° kristallisiert. Es wurden 73 mg (0,274 mmol, 93%) entschütztes **17** als weisse, stabförmige Kristalle erhalten. Schmp. 159°. DC (Kieselgel, CHCl₃/MeOH 3:1): R_f 0,32. [α]_D²⁵ = + 33,3 (EtOH, *c* = 0,61). UV (H₂O): 248 (11800). IR (KBr): 3410s (*br.*), 3280 (*sh*), 3120m, 3060m, 3030 (*sh*), 2950 (*sh*), 2930m, 2870m, 1725 (*sh*), 1700s, 1590m, 1550m, 1515m, 1495w, 1455m, 1420m, 1380m, 1345m, 1315m, 1255w, 1220m, 1170w, 1115 (*sh*), 1100 (*sh*), 1070s, 1040m, 1030 (*sh*), 1000w, 990 (*sh*), 945m, 915m, 890 (*sh*), 835w, 810w, 790m, 740m, 700m, 650m, 645 (*sh*), 615m, 565w, 535w. ¹H-NMR (400 MHz, (D₆)DMSO): 1,64, 2,01, 2,10, 2,31 (4*m*, 2 H–C(2'), 2 H–C(3')); 3,36 (*m*, H–C(5'), H–C(6')); 3,47 (*dd*, *J* = 4,8, 11,5, H–C(6')); 3,68*m*, H–C(4'); 4,55, 4,96 (2 *br. s*, 2 OH); 5,67 (*d*, *J* = 10,2, H–C(1')); 8,07 (*s*, H–C(2)); 8,31 (*s*, H–C(8)); 12,37 (*br. s*, NH). ¹³C-NMR (100 MHz, (D₆)DMSO): 29,3, 31,4 (2*t*, C(2'), C(3')); 60,8 (*t*, C(6')); 64,0 (*d*, C(4')); 80,7 (*d*, C(5')); 83,3 (*d*, C(1')); 123,9 (*s*, C(5)); 138,2 (*d*, C(8)); 145,7 (*d*, C(2)); 147,7 (*s*, C(4)); 156,4 (*s*, C(6)). FAB-MS (positiv; 3-NOBA): 268 (15, [*M* + 2H]⁺), 267 (35, [*M* + H]⁺), 266 (17, *M*⁺), 186 (17), 185 (100), 138 (17), 137 (66), 136 (15), 94 (10), 93 (89), 77 (34), 57 (25).

Zu einer Suspension von 648 mg (2,44 mmol) **15** in 5,0 ml Aceton wurden 400 mg (5,80 mmol) NaNO₂ und 10 ml H₂O hinzugefügt. Nach Zugabe von 4,0 ml (4,20 g, 69,9 mmol) AcOH setzte Gas-Entwicklung ein. Es wurde bei RT. gerührt und jeweils nach 2, 4, 6, 12 und 24 h weitere 400 mg (5,80 mmol) NaNO₂ zugegeben, bevor nach 28 h vollständiger Umsatz erreicht war. Die Mischung wurde zur Trockene eingengt und in CH₂Cl₂/MeOH 7:1 aufgenommen, der Niederschlag abfiltriert, mit CH₂Cl₂/MeOH 7:1 gewaschen und die vereinigten Filtrate eingengt. Nach Kristallisation aus EtOH/H₂O bei 4° wurden 384 mg (1,44 mmol, 59%) **17** erhalten.

4. Exper. zu Fig. 7. 2,6-Dibenzamido-9-(2',3'-dideoxy- β -D-glucopyranosyl)purin (**19**). Zu einer auf 0° gekühlten Lsg. von 2 g (4,10 mmol) **8** (3mal aus je 10 ml Toluol eingeengt und während mehrerer Stunden i. HV. getrocknet) in 40 ml Pyridin wurden unter Ar innert 1 h 4,72 ml (41 mmol) PhCOCl getropft. Man liess über Nacht bei RT. rühren. Die Lsg. wurde in 200 ml AcOEt aufgenommen und mit 200 ml eiskalter, halbges. NaHCO₃-Lsg. und 200 ml Eiswasser extrahiert. Die H₂O-Phasen wurden mit AcOEt (2 × 400 ml) rückextrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden zu einem dunkelgelben Öl eingeengt. Dieses wurde in 250 ml THF/MeOH/H₂O 5:4:1 gelöst und auf 0° gekühlt. Es wurden 24,6 ml (49,2 mmol) 2N NaOH zugegeben. Nach 40 min Rühren bei 0° wurde die tieforange Lsg. mit 3,16 g (59,0 mmol) NH₄Cl versetzt und vollständig eingeengt. Der Rückstand wurde in CH₂Cl₂ suspendiert, mit 20 g Kieselgel versetzt, vollständig eingeengt und an weiteren 140 g Kieselgel chromatographiert (Gradient CH₂Cl₂/MeOH 20:1 bis 4:1). Die produktthaltigen Fraktionen wurden eingeengt und über Nacht i. HV. getrocknet: 1,72 g (86%) **19** als hellgelbes Pulver. DC (Kieselgel, CHCl₃/MeOH 9:1): R_f 0,39. $[\alpha]_D^{25} = -0,3$ (DMSO, $c = 1,17$). UV (MeOH): 203, 253, 280 (sh), 295 (sh). IR (KBr): 3360s (br.), 3280 (sh), 3120m, 3060w, 2920m, 2870m, 1700s, 1630s, 1595s, 1555m, 1525w, 1480s, 1440s, 1410w, 1380s, 1345w, 1300m, 1260 (sh), 1240s, 1190m, 1160w, 1125m, 1100m, 1085m, 1075m, 1060m, 1040m, 1000m, 940m, 910w, 880w, 820w, 795m, 750w, 710s. ¹H-NMR (300 MHz, (D₅)Pyridin): 1,87–2,01, 2,10–2,15, 2,38–2,57 (3m, 2 H–C(2'), 2 H–C(3')); 3,98 (ddd, $J = 2,3, 5,5, 9,3$, H–C(5')); 4,11 (br. m, H–C(4')); 4,31 (dd, $J = 5,5, 11,0$, 1 H–C(6')); 4,48 (br. d, $J = 11,0$, 1 H–C(6')); 6,02 (br. d, $J = 10,1$, H–C(1')); 6,74 (br. m, HO–C(6')); 6,93 (br. d, $J = 4,5$, HO–C(4')); 7,44–7,58 (m, 6 arom. H); 8,29 (m, 2 arom. H); 8,47 (br. m, 2 arom. H); 8,71 (s, H–C(8)); 12,1–12,6 (br. s, 2 HN). ¹³C-NMR (75 MHz, (D₅)Pyridin): 30,41, 32,76 (2t, C(2'), C(3')); 62,66 (t, C(6')); 65,29 (d, C(4')); 81,79, 85,16 (2d, C(1'), C(5')); 128,77, 128,77, 128,89, 129,45, 132,14, 132,43 (6s + d, arom. C, C(5)); 141,28 (br. d, C(8)); 152,08 (s, C(2/4/6)); 165,5 (br. s, CO). FAB-MS (positiv; 3-NOBA): 977 (6, [M + H]⁺), 489 (73, [M + H]⁺), 359 (100), 154 (28), 136 (23), 105 (78), 89 (10), 77 (24).

2-(Benzylxy)-6-[(dibutylamino)methyliden]amino]-9-(2',3'-dideoxy- β -D-glucopyranosyl)purin (**20**). Unter Ar gab man 2,28 g (11,3 mmol) *N,N*-Dibutylformamid-diethyl-acetal zu einer Lsg. von 1,67 g (4,5 mmol) **11** in 15 ml MeOH. Nach 3,5 h Rühren bei RT. wurde das Gemisch eingeengt. Der Rückstand wurde an Kieselgel zunächst mit AcOEt und dann mit AcOEt/MeOH 9:1 chromatographiert. Die produktthaltigen Fraktionen wurden eingeengt und der Rückstand 2mal aus AcOEt kristallisiert: 1,45 g (63%) **20** als farbloser Festkörper. Schmp. 121–123°. DC (Kieselgel, AcOEt/MeOH 3:1): R_f 0,56. IR (KBr): 3420s (br.), 3030w, 2960m, 1625m, 1625m, 1560s, 1410s, 1390s. ¹H-NMR (300 MHz, (D₆)DMSO): 0,92 (t, $J = 7,0$, Me(Bu)); 0,93 (t, $J = 7,4$, Me(Bu)); 1,23–1,39 (m, CH₂(Bu)); 1,53–1,69 (m, H–C(2'/3'), CH₂(Bu)); 1,93–2,36 (m, 3 H, H–C(2'), H–C(3')); 3,36–3,73 (m, H–C(4'), H–C(5'), 2 H–C(6'), 2 CH₂(Bu)); 4,56 (t, HO–C(6')); 4,95 (d, $J = 5,1$, HO–C(4')); 5,38 (s, CH₂(Bu)); 5,64 (dd, $J = 2,0, 11,2$, H–C(1')); 7,29–7,50 (m, 5 arom. H); 8,24 (s, H–C(8)); 8,86 (s, N=CH). ¹³C-NMR (75 MHz, (D₆)DMSO): 13,5, 13,7 (2q, Me(Bu)); 19,1, 19,6, 28,6 (3t, CH₂(Bu)); 29,2 (t, C(2'/3')); 30,4 (t, CH₂(Bu)); 31,6 (t, C(2'/3')); 44,4, 50,9 (2, CH₂(Bu)); 60,9 (t, C(6')); 64,2 (d, C(4')); 68,0 (t, CH₂(Bu)); 80,4 (d, C(5')); 83,2 (d, CH(1')); 121,5 (s, C(5)), 127,6, 128,0, 128,2 (3d, arom. C); 137,5 (s, arom. C); 139,4 (d, C(8)); 152,7 (s, C(4)); 158,0 (d, N=H); 160,1 (s, C(6)); 160,4 (s, C(2)). FAB-MS (positiv; 3-NOBA): 511 (37, [M + H]⁺), 403 (35), 381 (80), 291 (9), 91 (100). Anal. ber. für C₂₇H₃₈N₆O₄ (510,64): C 63,5, H 7,5, N 16,5; gef.: C 63,3, H 7,4, N 16,5.

2-(Allyloxy)-6-benzamido-9-(2',3'-dideoxy- β -D-glucopyranosyl)purin (**22**). In 30 ml abs. Pyridin wurden 1,00 g (3,10 mmol) **12** bei 50° gelöst. Die farblose Lsg. wurde unter Ar auf 0° abgekühlt und man gab 3,90 ml (31,0 mmol) PhCOCl zu. 10 min später wurde die Reaktion auf RT. erwärmt, wobei ein weisser Niederschlag ausfiel. Nach 17 h Rühren bei RT. wurde das Gemisch bei 35° eingeengt. Der Rückstand wurde in 200 ml AcOEt aufgenommen und mit 200 ml ges. NaHCO₃-Lsg. und 170 ml H₂O gewaschen. Die wässr. Phasen wurden 2mal mit je 50 ml AcOEt rückextrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden getrocknet (MgSO₄), eingeengt und i. HV. während 1 h getrocknet. Man erhielt das tetrabenzoyl-geschützte Nucleosid **21** als dunkelbraunes Öl. Dieses wurde in 106 ml Pyridin gelöst. Bei 0° gab man 66 ml MeOH und 17 ml H₂O zu, wobei sich eine gelbe Lsg. bildete. Dann wurden 19,0 ml 2N NaOH-Lsg. zugegeben. Nach 70 min Rühren bei 0° wurde die Reaktion durch Zugabe von 2,40 g (44,9 mmol, 2 mol-equiv. bez. NaOH) NH₄Cl gestoppt und bei 45° eingeengt. Der Rückstand wurde in 100 ml MeOH gelöst, auf 15 g Kieselgel adsorbiert und an 90 g Kieselgel mit CH₂Cl₂/MeOH 9:1 chromatographiert. Die produktthaltigen Fraktionen wurden vereinigt und eingeengt. Der so erhaltene Festkörper wurde in 10 ml siedendem MeOH gelöst und bei RT. kristallisiert. Nach dem Trocknen i. HV. bei RT. erhielt man 1,24 g (2,63 mmol, 85%) **22** als weisse Kristalle. DC (Kieselgel, CHCl₃/MeOH 9:1): R_f 0,26. IR (KBr): 3400s (br.), 3020m (sh), 2950m, 2930w, 2860w, 1769s, 1610s, 1590s, 1540s, 1350s. ¹H-NMR (400 MHz, (D₆)DMSO): 1,63–1,71, 2,04–2,15, 2,41–2,46 (3m, 2 H–C(2'), 2 H–C(3')); 3,39–3,51 (m, 3 H, H–C(4'/5'/6')); 3,68–3,72 (m, 1 H, H–C(4'/5'/6')); 4,58 (t, $J = 5,7$, HO–C(6')); 4,87 (dt, $J = 1,4, 4,1$, CH₂(Allyl)); 4,97 (br. s, HO–C(4')); 5,26 (ddt, $J = 1,3, 1,6, 10,7$, 1 H, CH₂(Allyl)); 5,43 (ddt, $J = 1,6, 1,7, 17,3$, 1 H, CH₂(Allyl)); 5,73 (dd, $J = 2,0, 11,1$,

H–C(1''); 6,06–6,15 (*m*, 1 H, CH(Allyl)); 7,52–7,56 (*m*, 2 arom. H); 7,62–7,66 (*m*, 1 arom. H); 8,00–8,02 (*m*, 2 arom. H); 8,48 (*s*, H–C(8)); 11,1 (*s*, NH). ¹³C-NMR (100 MHz, (D₆)DMSO): 30,0, 31,5 (*2t*, C(2'), C(3'')); 60,9 (*t*, C(6'')); 64,1 (*d*, C(4'')); 66,6 (*t*, CH₂(Allyl)); 80,6 (*d*, C(5'')); 83,2 (*d*, C(1'')); 117,2 (*t*, CH₂(Allyl)); 121,1 (*s*, C(5)); 128,3 (*d*, arom. C); 128,4 (*d*, CH(Allyl)); 132,3 (*d*, arom. C); 133,4 (*s*, arom. C); 141,2 (*d*, C(8)); 151,2 (*s*, C(4)); 153,6 (*s*, C(6)); 160,1 (*s*, C(2)); 165,7 (*s*, CO). FAB-MS (positiv; 3-NOBA): 488 (31, [M + Na]⁺), 426 (81, [M + H]⁺), 318 (8), 307 (31), 296 (84), 154 (100), 136 (77), 105 (73).

5. Exper. zu Fig. 8. 4,6-Di-O-benzoyl-1-chloro-2,3-dideoxy- α -D-glucopyranose (**23**). Eine Lsg. von 24 g (64 mmol) **1** in 250 ml CH₂Cl₂ wurde bei mit 50 ml SOCl₂ versetzt und 17 h bei RT. gerührt. Anschliessend wurde das Gemisch eingedampft und 4mal mit Benzol koevaporiert. Nach Trocknen i. HV. bei RT. erhielt man 24,2 g (100%) **23** als farbloses Öl. ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): 2,1–2,4 (*m*, 2 H–C(2')), 2 H–C(3''); 4,38–5,18 (*m*, H–C(5')), 2 H–C(6''); 5,05–5,3 (*m*, H–C(4'')); 6,3 (*s*, H–C(1'')); 7,35–7,7 (*m*, 6 arom. H); 7,95–8,15 (*m*, 4 arom. H).

2-Amino-6-chloro-9-(4',6'-di-O-benzoyl-2',3'-dideoxy- β -D-glucopyranosyl)-7-carbapurin (**25**). Eine Lsg. von 7 g (39,7 mmol) 2-Amino-6-chloro-7-carbapurin (**24**) in 70 ml DMF wurde bei –15° portionsweise mit 1,0 g (41,6 mmol) NaH (NaH-Suspension mit Hexan gewaschen) versetzt und 90 min bei RT. unter N₂ gerührt. Anschliessend wurden 21 g (55,5 mmol) **23** in 35 ml DMF gelöst bei RT. zuge tropft. Nach 90 min wurde das Gemisch mit festem NH₄Cl versetzt und i. HV. bei 35° eingedampft. Der Rückstand wurde in MeOH suspendiert, auf Kieselgel aufgezogen und chromatographiert (Gradient CH₂Cl₂/Aceton 30:1 bis 15:1). Die Produkt enthaltenden Fraktionen wurden vereinigt und eingedampft (6,5 g) und nochmals an Kieselgel mit Et₂O/Petrolether 7:3 chromatographiert. Die produkthaltigen Fraktionen wurden abermals vereinigt und eingedampft. Man erhielt 5,8 g (29%) **25** als weissen Schaum. DC (Kieselgel, CH₂Cl₂/Aceton 5:1): R_f 0,50. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): 1,88–2,02 (*m*, 1 H–C(3'')); 2,11–2,35 (*m*, 2 H–C(2'')); 2,56–2,64 (*m*, 1 H–C(3'')); 4,23–4,29 (*m*, H–C(5'')); 4,42 (*dd*, *J* = 5,4, 12,1, 1 H–C(6'')); 4,62 (*dd*, *J* = 2,7, 12,1, 1 H–C(6'')); 5,04 (*s*, NH₂); 5,19 (*dt*, *J* = 4,1, 10,4, H–C(4'')); 5,99 (*dd*, *J* = 2,4, 11,3, H–C(1'')); 6,45 (*d*, *J* = 3,8, H–C(7'')); 7,09 (*d*, *J* = 3,8, H–C(8'')); 7,35–7,60 (*m*, 6 arom. H), 7,97–8,05 (*m*, 4 arom. H). ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): 28,6 (*t*, C(3'')); 29,9 (*t*, C(2'')); 63,9 (*t*, C(6'')); 68,1 (*d*, C(4'')); 77,5 (*d*, C(5'')); 80,7 (*d*, C(1'')); 101,0 (*d*, C(7'')); 111,0 (*s*, C(5)); 122,2 (*d*, C(8'')); 128,3, 128,5 (*2d*, arom. C); 129,6 (*s*, arom. C); 129,7, 133,9, 133,4 (*3d*, arom. C); 152,8, 153,3 (*2s*, C(4), C(6)); 158,6 (*s*, C(2)); 165,6, 166,3 (*2s*, CO). FAB-MS (positiv; 3-NOBA): 509 (39, [M + 2H]⁺), 508 (38, [M + H]⁺), 507 (75, M⁺), 170 (32); 169 (52), 168 (62), 154 (25), 105 (100), 77 (27).

2-Amino-6-allyloxy-9-(2',3'-dideoxy- β -D-glucopyranosyl)-7-carbapurin (**26**). Zu 100 ml einer 0,69M Lsg. von Natrium-allylat in Allyl-alkohol (1,58 g Na in 100 ml Allyl-alkohol) wurden 2,55 g (5 mmol) **25** unter N₂ bei RT. zugegeben und anschliessend 4,5 h auf 90° erhitzt. Nach dem Abkühlen der Lsg. wurden 30 g festes NH₄Cl und 8 g Kieselgel zugegeben und das Gemisch eingedampft. Der Rückstand wurde 'flash'-chromatographisch (Kieselgel, MeOH-Gradient in CH₂Cl₂ 5–100%) gereinigt. Die produkthaltigen Fraktionen wurden vereinigt und eingedampft. Es wurden 1,4 g (87%) **26** als weisser Schaum erhalten. DC (Kieselgel, CHCl₃/MeOH 12:1): R_f 0,37. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): 1,71–2,25 (*m*, 2 H–C(2''), 2 H–C(3'')); 3,63–3,84 (*m*, H–C(4''), H–C(5''), H–C(6''), OH); 3,97 (*dd*, *J* = 2,4, 11,5, 1 H–C(6'')); 4,3 (*br. s.*, HO); 4,81–4,93 (*m*, CH₂(Allyl), NH₂); 5,26 (*dd*, *J* = 1,4, 10,4, 1 H, CH₂(Allyl)); 5,4 (*ddd*, *J* = 1,5, 3,1, 17,3, 1 H, CH₂(Allyl)); 5,83 (*dd*, *J* = 2,0, 10,8, H–C(1'')); 6,01–6,14 (*ddd*, *J* = 5,3, 10,4, 17,3, CH(Allyl)); 6,39 (*d*, *J* = 3,7, H–C(7'')); 6,85 (*d*, *J* = 3,7, H–C(8'')). ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): 29,8, 31,9 (*2t*, C(2''), C(3'')); 63,0 (*t*, C(6'')); 66,6 (*d*, C(4'')); 66,6 (*t*, CH₂(Allyl)); 80,4 (*t*, C(5'')); 81,8 (*d*, C(1'')); 99,1 (*s*, C(5)); 100,0 (*d*, C(7'')); 117,7 (*t*, CH₂(Allyl)); 118,8 (*d*, C(8'')); 153,8 (*s*, C(4)); 159,1 (*s*, C(2)); 163,1 (*s*, C(6)). FAB-MS (positiv; 3-NOBA): 641 (8, [2M + H]⁺), 322 (30, [M + 2H]⁺), 321 (100, [M + H]⁺), 320 (61, M⁺), 191 (44), 190 (67), 150 (25), 136 (24).

6-(Allyloxy)-2-benzamido-9-(2',3'-dideoxy- β -D-glucopyranosyl)-7-carbapurin (**27**). Eine Lsg. von 1,43 g (4,36 mmol) **26** in 45 ml Pyridin wurde unter N₂ bei 0° mit 6,1 g (44 mmol) PhCOCl versetzt und anschliessend bei RT. 12 h gerührt. Hierauf wurde festes NaHCO₃ zugegeben und das Gemisch eingedampft. Der Rückstand wurde in CH₂Cl₂ aufgenommen und mit verdünnter NaHCO₃-Lsg. extrahiert. Die wässr. Phasen wurden mit CH₂Cl₂ rückextrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden getrocknet (Na₂SO₄), filtriert und eingedampft. Zu diesem Rückstand wurden 150 ml Pyridin, 95 ml MeOH und 25 ml H₂O gegeben und das Gemisch auf 0° abgekühlt. Hierauf wurden 27 ml einer 2N NaOH-Lsg. zugegeben und das Gemisch 80 min bei 0° gerührt. Anschliessend wurde festes NH₄Cl zugegeben und i. HV. eingedampft. Der Rückstand wurde in MeOH suspendiert mit 10 g Kieselgel versetzt und eingedampft. Nach chromatographischer Reinigung an Kieselgel mit CH₂Cl₂/MeOH 18:1 wurden 1,55 g (83%) **27** als weisser Schaum erhalten. DC (Kieselgel, CH₂Cl₂/Aceton 12:1): R_f 0,30. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): 1,76–1,83 (*m*, 1 H–C(3'')); 1,97–2,16 (*m*, 2 H–C(2'')); 2,22–2,44 (*m*, 1 H–C(3'')); 3,66–3,93 (*m*, H–C(4''), H–C(5''), 2 H–C(6''), 2 OH); 4,87–4,99 (*m*, CH₂(Allyl)); 5,27 (*dd*, *J* = 1,4, 10,4, 1 H,

CH₂(Allyl)); 5,42 (*ddd*, $J = 1,5, 3,0, 15,7$, 1 H, CH₂(Allyl)); 5,98 (*dd*, $J = 2,5, 10,3$, H–C(1')); 6,09 (*ddt*, $J = 5,7, 10,4, 17,2$, 1 H, CH₂(Allyl)); 6,47 (*d*, $J = 3,7$, H–C(7)); 7,06 (*d*, $J = 3,7$, H–C(8)); 7,42–7,55 (*m*, 3 arom. H); 7,89–7,93 (*m*, 2 arom. H); 8,71 (*s*, HN). ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): 30,2, 31,7 (*2t*, C(2'), C(3')); 63,3 (*t*, C(6')); 66,8 (*d*, C(4')); 67,2 (*t*, CH₂(Allyl)); 80,6 (*d*, C(5')); 81,6 (*d*, C(1')); 100,0 (*d*, C(7)); 102,6 (*s*, C(5)); 118,2 (*t*, CH₂(Allyl)); 121,9 (*d*, C(8)); 127,5, 128,6, 132,0 (*3d*, arom. C); 132,8 (*d*, CH(allyl)); 134,9 (*s*, arom. C); 151,3, 152,2 (*2s*, C(2), C(4)); 162,6 (*s*, C(6)); 165,7 (*s*, CO). FAB-MS (*positiv*; 3-NOBA): 426 (21, [M + H]⁺), 425 (67, M⁺), 295 (47), 294 (26), 254 (23), 133 (15), 105 (100), 77 (23), 73 (46).

6. Exper. zu Fig. 9. 2,6-Dibenzamido-9-{2',3'-dideoxy-6'-O-[bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methyl]-β-D-glucopyranosyl}purin (**28**). Eine Lsg. von 0,928 g (1,90 mmol) **19** (3mal aus je 5 ml Pyridin eingeengt und über Nacht i. HV. getrocknet) in 1,5 ml Pyridin wurde unter Ar mit 0,651 ml (3,80 mmol) (i-Pr)₂EtN, 11,6 mg DMAP (0,10 mmol) sowie 0,837 g (2,47 mmol) (MeO)₂TrCl versetzt. Es wurde während 1,5 h bei RT. gerührt. Die dunkelorange Lsg. wurde in 15 ml Toluol aufgenommen und auf ca. 1 ml eingeengt. Das Rohprodukt wurde in etwas CH₂Cl₂ gelöst und an Kieselgel chromatographiert (Gradient: AcOEt/i-PrOH 1:0 bis 5:1). Die produktthaltigen Fraktionen wurden eingeengt und über Nacht i. HV. getrocknet: 1,24 g (83%) **28** als farbloses Pulver. DC (Kieselgel, CHCl₃/MeOH 20:1): R_f 0,34. [α]_D²⁵ = –14,1 (DMSO, $c = 1,19$). UV (MeOH): 203, 235, 248 (sh), 270 (sh), 280 (sh), 295 (sh). IR (KBr): 3400s (br.), 3280(sh), 3060m, 3030w, 3000w, 2940 (sh), 2930m, 2880w, 2840w, 1695s, 1620s, 1610s, 1595s, 1510s, 1480m, 1440s, 1405m, 1380m, 1300m, 1250s, 1180m, 1155w, 1075s, 1035m, 1000w, 950w, 920w, 880w, 830m, 795m, 755w, 725w, 705s, 670w, 635w, 585m. ¹H-NMR (400 MHz, (D₅)Pyridin): 1,90–1,99, 2,14–2,33, 2,36–2,49 (*3m*, 2 H–C(2'), 2 H–C(3')); 3,62, 3,63 (*2s*, 2 MeO); 3,71 (*dd*, $J = 6,2, 10,1$, 1 H–C(6')); 3,81 (*t*, $J = 5,0$, Fremdsignal); 3,93 (*br. d*, $J = 10,1$, 1 H(6')); 4,01 (*t*, $J = 5,0$, Fremdsignal); unter dem Fremdsignal: 3,96–4,03 (*m*, H–C(4')); 4,16 (*ddd*, $J = 1,5, 6,2, 9,5$, H–C(5')); 6,11 (*br. d*, $J = 9,0$, H–C(1')); 6,87 (Signalhaufen, 4 arom. H, OH); 7,30–7,77 (Signalhaufen, 14 arom. H); 8,29 (*m*, 2 arom. H); 8,40 (*br. m*, 2 arom. H); 8,75 (*s*, H–C(8)); 12,15 (*br. s*, HN). ¹³C-NMR (100 MHz, (D₆)DMSO): 29,08, 31,70 (*2t*, C(2'), C(3')); 54,85 (*q*, MeO); 63,86 (*t*, C(6')); 64,44 (*d*, C(4')); 80,58, 81,48 (*2d*, C(1'), C(5')); 85,03 (*s*, C–O–C(6')); 112,89 (*d*, arom. C); 123,21 (*s*, C(5)); 126,38, 127,53, 127,75, 127,98, 128,24, 128,37, 128,96, 131,79, 132,35 (*9d*, arom. C); 133,15, 134,25, 135,70, 135,77 (*4s*, arom. C); 142,18 (*d*, C(8)); 144,97 (*s*, arom. C); 150,78, 152,38, 152,72 (*3s*, C(2), C(4), C(6)); 157,84 (*s*, arom. C); 165,46, 165,77 (*2s*, CO). FAB-MS (*positiv*; 3-NOBA): 813 (4, [M + Na]⁺), 791 (7, [M + H]⁺), 471 (3), 381 (3), 359 (58), 303 (100), 105 (48), 77 (15).

2,6-Bis(benzyloxy)-9-{2',3'-dideoxy-6'-O-[bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methyl]-β-D-glucopyranosyl}purin (**29**). Zu einer Lsg. von 0,769 g (1,66 mmol) **4** (über Nacht i. HV. getrocknet) in 1,5 ml Pyridin wuren unter Ar 0,679 g (1,99 mmol) (Bu₄N)ClO₄ und 0,673 g (MeO)₂TrCl (1,99 mmol) gegeben. Es wurde während 1,5 h bei RT. gerührt. Die Lsg. wurde in 40 ml AcOEt aufgenommen und mit 40 ml halbg. NaHCO₃-Lsg. sowie 40 ml H₂O extrahiert. Die wässr. Phasen wurden 2mal mit je 80 ml AcOEt rückextrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden getrocknet und eingeengt. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel chromatographiert (Hexan/AcOEt 1:1 bis 1:10). Die produktthaltigen Fraktionen wurden eingeengt und i. HV. getrocknet: 1,05 g (83%) **29** als fester, farbloser Schaum. DC (Kieselgel, Hexan/AcOEt 1:10): R_f 0,55. [α]_D²⁵ = –45,5 (CHCl₃, $c = 1,23$). UV (MeOH): 204, 234, 265. IR (KBr): 3490w (br.), 3060w, 3030w, 3000m, 2960w, 2930w, 2840w, 1610s, 1590s, 1510s, 1465m, 1455m, 1400m, 1345s, 1305w, 1250s, 1175m, 1135w, 1090w, 1040m, 995w, 940w, 905w, 830m, 700m. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): 1,67–1,81, 1,96–2,31 (*2m*, 2 H–C(2'), 2 H–C(3')); 3,22 (*d*, $J = 2,1$, OH); 3,30 (*dd*, $J = 6,3, 9,6$, 1 H–C(6')); 3,50 (*dd*, $J = 4,1, 9,6$, 1 H–C(6')); 3,64–3,77 (*m*, H–C(4'), H–C(5')); 3,77 (*s*, MeO); 5,44, 5,60 (*2s*, 2 CH₂(Bn)); 5,73 (*dd*, $J = 2,5, 10,7$, H–C(1')); 6,82 (*m*, 4 arom. H); 7,82, 7,49 (*m*, 19 arom. H); 7,89 (*s*, H–C(8)). ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): 30,53, 30,66 (*2t*, H–C(2'), H–C(3')); 65,48 (*t*, C(6')); 68,67 (*d* + *t*, C(4'), CH₂(Bn)); 69,79 (*t*, CH₂(Bn)); 79,44, 81,32 (*2d*, C(1'), C(5')); 87,18 (*s*, C–O–C(6')); 113,33 (*d*, arom. C); 117,32 (*s*, C(5)); 127,06, 127,96, 128,04, 128,16, 128,42, 129,97 (*6d*, arom. C); 135,21, 135,41, 136,06, 136,77 (*4s*, arom. C); 138,42 (*d*, C(8)); 144,21 (*s*, arom. C); 15,15 (*s*, C(2/4/6)); 158,69 (*s*, arom. C); 160,92, 161,30 (*2s*, C(2/4/6)). FAB-MS (*positiv*; 3-NOBA): 787 (< 2, [M + Na]⁺), 764 (< 2, [M + H]⁺), 461 (< 2), 393 (< 2), 355 (< 2), 333 (23), 303 (100), 91 (65).

2,6-Diallyloxy-9-{2',3'-dideoxy-6'-O-[bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methyl]-β-D-glucopyranosyl}purin (**30**). Ein Gemisch von 0,700 g (1,93 mmol) **5** und 0,849 g (2,51 mmol) (MeO)₂TrCl wurde über Nacht i. HV. getrocknet. Es wurde unter Ar in 1,35 ml Pyridin gelöst und mit 0,661 ml (3,83 mmol) (i-Pr)₂EtN sowie 11 mg (0,1 mmol) DMAP versetzt. Es wurde während 1 h bei RT. gerührt. Die tieforange Lsg. wurde mit 0,2 ml MeOH versetzt, nach 15 min in 20 ml Toluol aufgenommen und auf 1 ml eingeengt. Der Rückstand wurde in 5 ml Hexan/EtOAc 1:1 gelöst, mit 1 g Kieselgel versetzt und an Kieselgel chromatographiert (Hexan/AcOEt 1:1 bis 1:5). Die produktthaltigen Fraktionen wurden eingeengt und i. HV. getrocknet: 1,17 g (91%) **30** als fester farbloser Schaum. DC (Kieselgel, Hexan/AcOEt 1:10): R_f 0,48. [α]_D²⁵ = +53,4 (CHCl₃, $c = 0,90$). UV (MeOH): 207, 234, 264. IR

(KBr): 3500w, 3100–3040w, 3010m, 2960m, 2940m, 2880w, 2840w, 1610s, 1595s, 1519s, 1465m, 1455w, 1445m, 1395s, 1335s, 1250s, 1180m, 1140w, 1090m, 1040m, 1000w, 960w, 940w, 830m. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 1,70–1,80, 2,00–2,11, 2,17–2,21, 2,25–2,30 (4m, 2 H–C(2'), 2 H–C(3')); 3,19 (d, J = 2,1, OH); 3,30 (dd, J = 6,4, 9,6, 1 H–C(6')); 3,50 (dd, J = 4,2, 9,6, 1 H–C(6')); 3,67 (ddd, J = 4,2, 6,4, 9,9, H–C(5')); 3,74 (ddd, J = 2,1, 4,6, 9,9, H–C(4')); 3,78, 3,79 (2s, 2 MeO); 4,91, 5,07 (2dt, J = 1,4, 5,7, 2 CH₂(Allyl)); 5,27, 5,29 (2ddd, J = 1,4, 2,8, 10,4, 2 CH(Allyl)); 5,42, 5,44 (2ddd, J = 1,4, 2,8, 17,2, CH₂(Allyl)); 5,73 (dd, J = 2,4, 10,9, H–C(1')); 6,12, 6,13 (2ddt, J = 5,7, 10,4, 17,2, CH₂(Allyl)); 6,83 (m, 4 arom. H); 7,19–7,42 (Signalhaufen, 9 arom. H); 7,90 (s, H–C(8)). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): 30,58, 30,70 (2t, C(2'), C(3')); 55,23 (q, MeO); 65,44 (t, C(6')); 67,83 (t, CH₂(Allyl)); 68,60 (d, C(4')); 68,75 (t, CH₂(Allyl)); 79,49, 81,28 (2d, H–C(1'), H–C(5')); 87,14 (s, C–O–C(6')); 113,33 (d, arom. C); 117,20 (s, C(5)); 118,31, 118,64 (2t, CH₂(Allyl)); 127,05, 127,96, 128,04, 129,96, 129,99 (5d, arom. C); 132,34, 132,98 (2d, CH(Allyl)); 135,24, 135,43 (2s, arom. C); 138,36 (d, C(8)); 144,24 (s, arom. C); 153,11 (s, C(2/4/6)); 158,68 (s, arom. C); 160,84, 161,23 (s, C(2/4/6)). FAB-MS (positiv; 3-NOBA): 665 (2, [M + H]⁺), 361 (3), 303 (100), 233 (42), 153 (5), 135 (8).

2-(Benzyloxy)-6-[(dibutylamino)methyliden]amino]-9-{2',3'-dideoxy-6'-O-[bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methyl]-β-D-glucopyranosyl}purin (31). Ein Gemisch von 1,41 g (2,8 mmol) **20** und 1,15 g (3,4 mmol) (MeO)₂TrCl in 10 ml 2,6-Lutidin wurde während 1,5 h bei RT. unter Ar gerührt. Die gelbe Lsg. wurde in 150 ml CH₂Cl₂ aufgenommen und mit halbges. NaHCO₃-Lsg. (2 × 100 ml) und ges. NaCl-Lsg (2 × 100 ml) gewaschen. Die org. Phase wurde getrocknet (Na₂SO₄) und eingengt. Der Rückstand wurde in 2 ml CH₂Cl₂ gelöst und an Kieselgel chromatographiert (Gradient Hexan/AcOEt 1:1 bis 1:3 mit 0,5% (i-Pr)₂EtN). Die produktthaltigen Fraktionen wurden eingengt und der Rückstand aus CH₂Cl₂ in Hexan gefällt. Der Niederschlag wurde erneut in CH₂Cl₂ gelöst, eingengt und i. HV. getrocknet: 1,34 g (60%) **31** als farbloser Festkörper. DC (Kieselgel, AcOEt): R_f 0,40. IR (KBr): 3060w, 2960m, 1625m, 1610m, 1560s (br.), 1510m, 1250m. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 0,91–0,96 (2t, 2 Me(Bu)); 1,31–1,42 (m, 2 CH₂(Bu)); 1,56–1,77 (m, 2 CH₂(Bu), H–C(2'/3')); 1,93–2,28 (m, 3 H, H–C(2'), H–C(3')); 3,22 (s, OH); 3,28–3,79 (m, 2 CH₂(Bu), H–C(4'), H–C(5'), H–C(6')); 3,77 (s, 2 MeO); 5,44 (s, CH₂(Bn)); 5,73 (dd, J = 2,4, 10,7, H–C(1')); 6,81–6,84 (m, 4 arom. H); 7,18–7,49 (m, 14 arom. H); 7,92 (s, H–C(8)); 8,86 (s, N=CH). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): 13,7, 13,9 (2q, Me(Bu)); 19,8, 20,2, 29,2 (3t, CH₂(Bu)); 30,5, 30,8 (2t, C(2'), C(3')); 31,0, 45,2, 51,7 (3t, CH₂(Bu)); 55,2 (q, MeO); 65,5 (t, C(6')); 68,8 (d, C(4')); 69,1 (t, CH₂(Bn)); 79,3 (d, C(5')); 81,1 (d, C(1')); 87,1 (s, C–O–C(6')); 113,3 (d, arom. C); 122,2 (s, C(5)); 127,0, 127,7 (2d, arom. C); 128,0 (s, arom. C); 128,1, 128,2, 128,3, 130,0, 130,0 (5d, arom. C); 135,2, 135,4, 137,5 (3s, arom. C); 137,8 (d, C(8)); 144,3 (s, arom. C); 152,6 (s, C(4)), 158,2 (s, arom. C); 158,7 (d, N=CH); 160,9, 161,4 (2s, C(2'), C(6')). Anal. ber. für C₄₉H₅₆N₆O₆ (825,03): C 70,9, H 6,9, N 10,3; gef.: C 70,7, H 6,9, N 10,2.

2-Allyloxy-6-benzamido-9-{2',3'-dideoxy-6'-O-[bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methyl]-β-D-glucopyranosyl}purin (32). Zu einer Lsg. von 4,25 g (9,99 mmol) **22** in 90 ml abs. Pyridin gab man 4,10 g (12,0 mol) (Bu₄N)ClO₄ und 4,06 g (12,0 mmol) (MeO)₂TrCl, wobei eine orange gefärbte Lsg. entstand. Nach 1 h Rühren bei RT. wurde die Lsg. mit 1 ml MeOH versetzt, bei 40° eingengt und mit 20 ml Toluol koevaporiert. Der Rückstand wurde in 100 ml CH₂Cl₂ aufgenommen und mit ges. NaHCO₃-Lsg. (3 × 100 ml) gewaschen. Die wässr. Phasen wurden mit CH₂Cl₂ (2 × 100 ml) rückextrahiert, die vereinigten org. Phasen getrocknet (MgSO₄) und eingengt. Der Rückstand wurde in 15 ml CH₂Cl₂ gelöst und an Kieselgel chromatographiert (Aceton/CH₂Cl₂ 1:4). Die produktthaltigen Fraktionen wurden vereint und eingengt. Nach 16 h Trocknen i. HV. bei RT. erhielt man 6,50 g (8,93 mmol, 89%) **32** als weissen Schaum. DC (Kieselgel, Aceton/CH₂Cl₂ 1:4): R_f 0,25. IR (KBr): 3440m (sh), 3420m (br.), 3300m (sh), 3080m (sh), 3060m (sh), 3030m, 3000m, 2940m (sh), 2930m, 2880m, 2840m, 2550w, 2040w, 1970w, 1710m, 1620s, 1610s, 1590s, 1510s, 1485s, 1460s, 1445s, 1405s (sh), 1390s, 1335s, 1300s, 1250s, 1180s, 1155s, 1110s (sh), 1085s, 1060s, 1030s, 1010m (sh), 1000m, 940m, 930m (sh), 920m, 900m (sh), 830m, 790m, 770w, 755m, 740w, 725m, 705m, 670m, 660m, 640m, 620w. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 1,72–1,99, 2,0–2,08, 2,18–2,29 (3m, 2 H–C(2'), 2 H–C(3')); 3,32 (dd, J = 6,2, 9,6, 1 H–C(6')); 3,49 (dd, J = 4,2, 9,6 1 H–C(6')); 3,65–3,70 (m, H–C(5')); 3,76 (s, 2 MeO); 3,73–3,82 (m, H–C(4')); 4,90 (d, J = 5,7, CH₂(Allyl)); 5,26 (dd, J = 1,2, 10,4, 1 H, CH₂(Allyl)); 5,43 (dq, J = 1,5, 17,8, 1 H, CH₂(Allyl)); 6,10 (ddt, J = 5,7, 10,5, 17,2, CH(Allyl)); 6,80–6,82 (m, 4 arom. H); 7,14–7,21 (m, 1 arom. H); 7,25–7,30 (m, 6 arom. H); 7,39–7,41 (m, 2 arom. H); 7,46–7,50 (m, 2 arom. H); 7,55–7,59 (m, 1 arom. H); 7,95–7,98 (m, 2 arom. H); 7,97 (s, H–C(8)); 9,02 (br. s, NH). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): 30,6, 31,6 (2t, C(2'), C(3')); 55,2 (q, MeO); 65,3 (t, C(6')); 68,5 (d, C(4')); 68,9 (t, CH₂(Allyl)); 79,6 (d, C(5')); 81,2 (d, C(1')); 87,2 (s, C–O–C(6')); 113,3 (d, arom. C); 118,3 (t, CH₂(Allyl)); 118,9 (s, C(5)); 127,1, 127,9, 128,0, 128,3, 130,0, 132,7, 132,9 (7d, arom. C, CH(Allyl)); 133,7, 135,4, 135,4 (3s, arom. C); 139,2 (d, C(8)); 144,2 (s, arom. C); 150,1 (s, C(4)); 153,6 (s, C(6)); 158,7 (s, arom. C); 161,1 (s, C(2)); 164,7 (s, CO). FAB-MS (positiv; 3-NOBA): 728 (13, M⁺), 304 (54), 303 (96), 297 (27), 29 (84), 243 (41), 242 (100), 184 (15), 154 (18), 142 (22), 137 (11), 136 (18), 135 (15), 106 (11), 105 (90), 77 (22).

9-*[2',3'-dideoxy-6'-O- β -bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methyl]- β -D-glucopyranosyl]hypoxanthin (33). Nucleosid **17** (342 mg, 1.28 mmol) wurde 2mal in je 20 ml abs. Pyridin gelöst und wieder eingeeengt und anschliessend 24 h i. HV. getrocknet. Der weisse Feststoff wurde in 12 ml abs. Pyridin unter Erwärmen gelöst und bei RT. mit 522 mg (1.54 mmol) (MeO)₂TrCl sowie 527 mg (1.54 mmol) (Bu₄N)ClO₄ versetzt. Es wurde 1 h bei RT. unter Ar gerührt. Zu der orangefarbenen Lsg. wurden anschliessend 5 ml MeOH zugegeben und weitere 10 min gerührt. Danach wurde die Lsg. eingeeengt, mit Toluol versetzt und erneut eingeeengt. Der ölige, gelbe Rückstand wurde in 20 ml CH₂Cl₂ aufgenommen und 3mal mit je 20 ml ges. NaHCO₃-Lsg. und einmal mit 20 ml ges. NaCl-Lsg. gewaschen. Die org. Phase wurde getrocknet (Na₂SO₄), eingeeengt und an Kieselgel mit CH₂Cl₂/MeOH 9:1 chromatographiert. Die Produktfraktionen wurden zusammengefasst, eingeeengt und in 30 ml AcOEt/MeOH 10:1 gelöst. Durch Zugabe von Hexan bis zur ersten Trübung konnten bei 4° über Nacht 608 mg (1.07 mmol, 83%) **33** kristallisiert werden. Schmp. 184°. DC (Kieselgel, CH₂Cl₂/MeOH 9:1): R_f 0,37. [α]_D²⁵ = -25.6 (CHCl₃, c = 0.89). UV (CDCl₃): 241 (36600), 274 (sh. 7850), 284 (sh. 6390), IR (KBr): 3430s (br.), 3280 (sh), 3120 (sh), 3090w, 3055w, 3030 (sh), 3000w, 2950 (sh), 2930m, 2900 (sh), 2870w, 2830w, 1700 (sh), 1684s (sh), 1605s, 1585s, 1545m, 1510s, 1460m, 1445m, 1415m, 1375m, 1350m, 1300m, 1250s, 1220m, 1180s, 1155w, 1115m, 1080 (sh), 1070m, 1035m, 1000m, 945w, 915w, 905 (sh), 830m, 810 (sh), 790w, 770 (sh), 755w, 730w, 705w, 650w, 635w, 610 (sh), 595 (sh), 585w, 560 (sh), 535w. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): 1.78 (m, 1 H, H-C(2')); 2.06 (m, 1 H, H-C(3')); 2.21 (m, 1 H, H-C(2'/3')); 2.31 (dd, J = 3.4, 12.8, 1 H, H-C(2'/3')); 3.34 (m, 2 H, H-C(5'/6')); 3.51 (dd, J = 3.9, 9.3, 1 H, H-C(5'/6')); 3.68–3.82 (m, 1 H, H-C(4')); 3.77 (s, 2 MeO); 7.17–7.37 (m, 7 arom. H); 7.41 (m, 2 arom. H); 7.99 (s, H-C(2)); 8.23 (s, H-C(8)). ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): 30.7, 30.9 (2t, C(2'), C(3')); 55.2 (q, MeO); 65.2 (t, C(6')); 68.3 (d, C(4')); 79.8 (d, C(5')); 81.8 (d, C(1')); 87.1 (s, C-O-C(6')); 113.3 (d, arom. C); 124.5 (s, C(5)); 127.0, 128.0, 130.0 (3d, arom. C); 135.3, 135.4 (2s, arom. C); 137.8 (d, C(8)); 144.3 (s, arom. C); 145.2 (d, C(2)); 148.3 (s, C(4)); 158.7 (s, arom. C); 159.1 (s, C(6)). FAB-MS (positiv; 3-NOBA): 569 (6, [M + H]⁺), 307 (21), 303 (100), 289 (15), 242 (14), 154 (80), 137 (68), 120 (13), 107 (21), 91 (15), 89 (19), 77 (20), 55 (16).*

6-Allyloxy-2-benzamido-9- β -[2',3'-dideoxy-6'-O- β -bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methyl]- β -D-glucopyranosyl]-7-carbapurin (**34**). Eine Lsg. von 0,730 g (1.69 mmol) **27** in 13 ml CH₂Cl₂/Pyridin 12:1 wurde unter Ar mit 0,720 g (2.1 mmol) (MeO)₂TrCl bei RT. versetzt. Nach 90 min wurde das Gemisch zwischen CH₂Cl₂ und verdünnter NaHCO₃-Lsg. verteilt. Die wässr. Phase wurde mit CH₂Cl₂ rückextrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden getrocknet (Na₂SO₄), filtriert und eingedampft. Der Rückstand wurde an Kieselgel chromatographisch gereinigt (Gradient: 5–20% Aceton in CH₂Cl₂). Die Produkt enthaltenden Fraktionen wurden vereinigt und eingedampft. Es wurden 1,05 g (85%) **34** als leicht gelblicher Schaum isoliert. DC (Kieselgel, CH₂Cl₂/Aceton 8:1): R_f 0.45. ¹H-NMR (400 MHz, CD₂Cl₂): 1.66–1.80, 2.02–2.16, 2.21–2.26 (3m, 2 H-C(2'), 2 H-C(3')), 3.26 (dd, J = 5.5, 9.6, 1 H, H-C(6')), 3.39 (dd, J = 4.3, 9.6, 1 H, H-C(6')), 3.67–3.78 (m, H-C(4'), H-C(5')), 3.75 (s, 2 MeO); 4.97 (dt, J = 1.3, 5.6, CH₂(Allyl)); 5.28 (ddd, J = 1.2, 2.7, 13.9, 1 H, CH₂(Allyl)); 5.44 (ddd, J = 1.6, 3.1, 17.2, 1 H, CH₂(Allyl)); 5.91 (dd, J = 2.7, 10.5, H-C(1')); 6.14 (ddt, J = 5.6, 10.5, 17.2, CH(Allyl)); 6.53 (d, J = 3.7, H-C(7)); 6.78–6.82 (m, 4 arom. H); 7.17 (d, J = 3.7, H-C(8)); 7.18–7.32 (m, 7 arom. H); 7.49–7.43 (m, 2 arom. H); 7.48–7.60 (m, 3 arom. H); 7.87–7.90 (m, 2 arom. H); 8.40 (s, NH). ¹³C-NMR (100 MHz, CD₂Cl₂): 30.65, 31.67, (2t, C(2'), C(3')); 55.60 (q, MeO); 65.81 (t, C(6')); 67.53 (t, CH₂(Allyl)); 68.68 (d, C(4')); 80.04 (d, C(5')); 81.18 (d, C(1')); 87.19 (s, C-O-C(6')); 99.97 (d, C(7)); 102.71 (s, C(5)); 113.59 (d, arom. C); 118.25 (t, CH₂(Allyl)); 122.45 (d, C(8)); 127.28, 127.80, 128.32, 128.40, 129.00, 130.42, 132.26 (7d, arom. C); 133.43 (d, CH(Allyl)); 135.68, 135.93, 136.04, 145.12 (4s, arom. C); 152.00, 152.86 (2s, (2), C(4)); 159.15 (s, arom. C); 163.00 (s, C(6)); 165.49 (s, CO). FAB-MS (positiv; 3-NOBA): 727 (2.5, M⁺), 304 (44), 303 (100), 295 (16), 294 (15), 105 (65), 102 (18), 77 (20), 73 (17).

2,6-Dibenzamido-9- β -[4'-O-[(2-cyanoethoxy)(diisopropylamino)phosphino]-2',3'-dideoxy-6'-O- β -bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methyl]- β -D-glucopyranosyl]purin (**35**). Eine Lsg. von 0,710 g (0,90 mmol) **28** (3 \times aus je 10 ml Pyridin eingeeengt und über Nacht i. HV. getrocknet) in 9 ml Pyridin wurde unter Ar mit 0,615 ml (3,59 mmol) (i-Pr)₂EtN und 0,300 ml (1,35 mmol) Chloro(2-cyanoethoxy)(diisopropylamino)phosphin versetzt. Es wurde während 30 min bei RT. gerührt. Danach wurde die Lsg. in 50 ml Toluol aufgenommen, auf ca. 3 ml eingeeengt und bei 0° an Kieselgel mit CH₂Cl₂/Hexan/Et₃N 9:9:2 chromatographiert. Die produkthaltigen Fraktionen wurden eingeeengt und i. HV. getrocknet: 0,786 g (8%) **35** als fester, hellgelber Schaum. DC (Kieselgel, CH₂Cl₂/Hexan/Et₃N 9:9:2): R_f 0,34, 0,43. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 0.92, 1.09, 1.12, 1.15 (4d, 2 Me₂CH); 1.84–1.89 (br. m, 1 H, H-C(2'/3')); 1.99–2.11 (br. m, 1 H, H-C(2'/3')); 2.32 (dt, J = 4.4, 6.2, 1 H, CH₂CN); 2.35–2.46 (br. m, 2 H, H-C(2'/3')); 2.60 (t, J = 6.2, 1 H, CH₂CN); 3.26–4.05 (m, H-C(4'), H-C(5'), 2 H-C(6'), 2 Me₂CH, CH₂O); 3.74, 3.75, 3.76 (4s, 2 MeO); 5.94 (br. d, J = 10.1, H-C(1')); 6.74–6.80 (m, 4 arom. H); 7.00–7.62 (m, 15 arom. H); 7.96, 8.04 (2m, 4 arom. H); 8.22 (s, 0,4 H, H-C(8)); 8.25 (s, 0,6 H, H-C(8)); 9.27 (br. d, J = 8.9, HN); 9.36 (br. s, NH). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): 20.18 (dt, J(C,P) = 7.3, CH₂CN); 20.40

(*dt*, $J_p = 7.2$, CH_2CN): 24,28, 24,35, 24,46, 24,52, 24,55, 24,58, 24,63, 24,71 (8*q*, 2 Me_2CH); 30,48, 30,84 (2*dt*, $J_p < 4$, $\text{C}(3'')$); 31,38, 31,50 (2*t*, $\text{C}(2'')$); 43,04, 43,14, 43,26 (3*d*, Me_2CH); 55,16, 55,24 (2*q*, MeO); 57,66 (*dt*, $J_p = 20.3$, CH_2O); 58,30 (*dt*, $J_p = 18.7$, CH_2O); 63,21, 63,41 (2*t*, $\text{C}(6'')$); 67,19 (*dd*, $J_p = 17.3$, $\text{C}(4'')$); 67,86 (*dd*, $J_p = 12.6$, $\text{C}(4'')$); 81,40 (*dd*, $J_p = 10.4$, $\text{C}(5'')$); 81,48 (*dd*, $J_p = 6.6$, $\text{C}(5'')$); 81,81, 81,94 (2*d*, $\text{C}(1'')$); 85,82 (*s*, $\text{C}-\text{O}-\text{C}(6'')$); 112,96 (*d*, arom. C); 117,61, 117,64 (2*s*, CN); 119,91 (*s*, $\text{C}(5'')$); 126,65, 126,76, 127,64, 127,68, 127,93, 128,34, 128,49, 128,70, 128,88, 130,19, 130,26, 130,29, 130,36 (13*d*, arom. C); 132,24, 132,87, 133,52, 134,45, 136,08, 136,18, 136,26 (7*s*, arom. C); 140,11, 140,22 (2*d*, $\text{C}(8'')$); 144,82, 144,98 (2*s*, arom. C); 149,79, 152,12, 152,24, 152,69 (4*s*, $\text{C}(2'')$, $\text{C}(4'')$, $\text{C}(6'')$); 158,39, 158,43 (2*s*, arom. C); 164,80, 165,29, 165,36 (3*s*, CO). ^{31}P -NMR (162 MHz, CDCl_3): 148,61; 148,85. FAB-MS (positiv; 3-NOBA): 1013 (< 1, $[\text{M} + \text{Na}]^+$), 991 (4, $[\text{M} + \text{H}]^+$), 359 (43), 303 (100), 201 (814), 105 (30).

2,6-Dibenzyl-9- β - D -glucopyranosyl- β -D-glucopyranosylpurin (36). Zu einer Lsg. von 0,610 g (0,80 mmol) **29** (über Nacht i. HV. getrocknet) in 6 ml frisch destilliertem THF wurden unter Ar 546 μl (3,19 mmol) (i-Pr) $_2$ EtN sowie 267 μl (1,19 mmol) Chloro(2-cyanoethoxy)(diisopropylamino)phosphin gegeben. Nach 10 min bildete sich ein farbloser Niederschlag. Nach 1 h Rühren bei RT. wurde der Niederschlag abfiltriert. Das Filtrat wurde bis auf 1 ml eingengt und bei 0° an Kieselgel mit 1% Et_3N in Hexan/AcOEt 1:1 chromatographiert. Einengen der produkt-haltigen Fraktionen und Trocknen i. HV. lieferten 0,714 g (94%) **20** als festen, farblosen Schaum. DC (Kieselgel, AcOEt/Hexan/ Et_3N 49:39:2): R_f 0,64. UV (MeOH): 234, 265. IR (CHCl_3): 3070*m*, 3050*w*, 3010*m*, 2970*m*, 2930*m*, 2880*w*, 2840*w*, 2260*w*, 1610*s*, 1590*s*, 1510*s*, 1465*m*, 1455*m*, 1440*m*, 1400*s*, 1350*s*, 1305*w*, 1250*s*, 1180*s*, 1155*w*, 1130*w*, 1080*m*, 1040*m*, 1000*w*, 980*m*, 905*w*, 880*w*, 830*w*. ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): 0,91, 1,09, 1,12, 1,15 (4*d*, 2 Me_2CH); 1,73–1,85, 1,98–2,10, 2,18–2,26 (3*m*, 3 H, $\text{H}-\text{C}(2'')$, $\text{H}-\text{C}(3'')$); 2,31 (*dt*, $J = 3,1$, 6,2, 1 H, CH_2CN); 2,35–2,45 (1*m*, 1 H, $\text{H}-\text{C}(2'')/3'')$); 2,59 (*dt*, $J = 1$, 6,1, 1 H, CH_2CN); 3,26–3,68 (1*m*, 11,5 H, $\text{H}-\text{C}(4'')$, $\text{H}-\text{C}(5'')$, $\text{H}-\text{C}(6'')$, Me_2CH , CH_2O); 3,72, 3,73, 3,74, 3,75 (4*s*, 2 MeO); 3,77–4,04 (1*m*, 2,5 H, $\text{H}-\text{C}(4'')$, Me_2CH , CH_2O); 5,43 (*d*, $J = 13,2$, 0,5 H, $\text{CH}_2(\text{Bn})$); 5,45 (*s*, 1 H, $\text{CH}_2(\text{Bn})$); 5,46 (*d*, $J = 13,2$, 0,5 H, $\text{CH}_2(\text{Bn})$); 5,61 (*d*, $J = 13,5$, 0,5 H, $\text{CH}_2(\text{Bn})$); 5,63 (*s*, 1 H, $\text{CH}_2(\text{Bn})$); 5,65 (*d*, $J = 13,5$, 0,5 H, $\text{CH}_2(\text{Bn})$); 5,81, 5,82 (2*dd*, $J = 2,2$, 10,8, $\text{H}-\text{C}(1'')$); 6,71–6,77 (1*m*, 4 arom. H); 7,17–7,51 (1*m*, 19 arom. H); 8,04, 8,06 (2*s*, $\text{H}-\text{C}(8'')$). ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): 20,17 (*dt*, $J_p = 7,2$, CH_2CN); 20,45 (*dt*, $J_p = 7,1$, CH_2CN); 24,29, 24,36, 24,47, 24,51, 24,55, 24,57, 24,63, 24,71 (8*q*, Me_2CH); 30,65, 30,98 (2*dt*, $J_p = 3,0$, $\text{C}(3'')$); 31,17, 31,26 (2*t*, $\text{C}(2'')$); 43,02, 43,13, 43,25 (3*d*, Me_2CH); 55,15, 55,22 (2*q*, MeO); 57,68 (*dt*, $J_p = 20,3$, CH_2O); 58,34 (*dt*, $J_p = 18,9$, CH_2O); 63,31, 63,57 (2*t*, $\text{C}(6'')$); 67,13 (*dd*, $J_p = 17,3$, $\text{C}(4'')$); 67,97 (*dd*, $J_p = 13,1$, $\text{C}(4'')$); 68,67, 68,69, 69,69 (3*t*, $\text{CH}_2(\text{Bn})$); 81,45 (*dd*, $J_p = 8,1$, $\text{C}(5'')$); 81,54 (*dd*, $J_p = 6,6$, $\text{C}(5'')$); 81,71, 81,80 (2*d*, $\text{C}(1'')$); 85,82 (*s*, $\text{C}-\text{O}-\text{C}(6'')$); 112,93 (*d*, arom. C); 117,45, 117,57, 117,60 (3*s*, CN, $\text{C}(5'')$); 126,66, 126,76, 127,67, 127,97, 128,13, 128,16, 128,23, 128,26, 128,35, 128,41, 128,47, 128,51, 130,19, 130,27, 130,30, 130,37 (16*d*, arom. C); 130,00, 136,10, 136,12, 136,14, 136,24, 136,82 (6*s*, arom. C); 138,45, 138,53 (2*d*, $\text{C}(8'')$); 144,79, 144,97 (2*s*, arom. C); 153,08, 153,12 (2*s*, $\text{C}(2/4/6)$); 158,38, 158,40, 158,44, 158,67 (4*s*, arom. C); 160,91, 160,92, 161,35, (3*s*, $\text{C}(2/4/6)$). ^{31}P -NMR (162 MHz, CDCl_3): 148,72; 148,82. FAB-MS (positiv; 3-NOBA): 965 (< 1, $[\text{M} + \text{H}]^+$), 303 (100), 201 (13), 91 (38).

2,6-Diallyloxy-9- β - D -glucopyranosyl- β -D-glucopyranosylpurin (37). Eine Lsg. von 800 mg (1,20 mmol) **30** (über Nacht i. HV. getrocknet) in 10 ml abs. THF wurde unter Ar mit 1,64 ml (9,60 mmol) (i-Pr) $_2$ EtN und 0,56 ml (2,40 mmol) Chloro(2-cyanoethoxy)(diisopropylamino)phosphin versetzt. Man liess 1 h bei RT. rühren. Danach wurde die Lsg. eingengt und bei 0° an Kieselgel mit 2% Et_3N in Hexan/AcOEt 1:1 chromatographiert. Einengen der produkt-haltigen Fraktionen und Trocknen über Nacht i. HV. lieferten 958 mg (92%) **37** als festen farblosen Schaum. DC (Kieselgel, AcOEt/Hexan/ Et_3N 82:16:2): R_f 0,62. UV (MeOH): 234, 264. IR (CHCl_3): 3100–3030*w*, 3005*m*, 2970*m*, 2930*m*, 2880*w*, 2840*w*, 1610*s*, 1590*s*, 1510*s*, 1465*m*, 1445*m*, 1395*s*, 1365*w*, 1335*s*, 1305*w*, 1250*s*, 1180*s*, 1155*w*, 1135*w*, 1080*m*, 1040*s*, 1000*w*, 980*m*, 935*w*, 830*m*. ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): 0,90, 1,08, 1,11, 1,14 (4*d*, 2 Me_2CH); 1,76–1,85, 2,01–2,09, 2,26–2,45 (3*m*, 2 $\text{H}-\text{C}(2'')$, 2 $\text{H}-\text{C}(3'')$); 2,31 (*dt*, $J = 2,9$, 6,3, 1 H, CH_2CN); 2,59 (*t*, $J = 6,3$, 1 H, CH_2CN); 3,25–4,03 (1*m*, $\text{H}-\text{C}(4'')$, $\text{H}-\text{C}(5'')$, $\text{H}-\text{C}(6'')$, 2 Me_2CH , CH_2O); 3,75, 3,76, 3,76, 3,77 (4*s*, 2 MeO); 4,91, 4,92 (2*dt*, $J = 1,4$, 5,8, $\text{CH}_2(\text{Allyl})$); 5,27 (br. *m*, $\text{CH}_2(\text{Allyl})$); 5,27, 5,30 (2*m*, 2 $\text{CH}(\text{Allyl})$); 5,42, 5,47 (2*m*, 2 $\text{CH}(\text{Allyl})$); 5,81, 5,82 (2*dd*, $J = 2,7$, 10,9, $\text{H}-\text{C}(1'')$); 6,07–6,21 (1*m*, 2 $\text{CH}(\text{Allyl})$); 6,72–6,79 (1*m*, 4 arom. H); 7,00–7,46 (1*m*, 9 arom. H); 8,04, 8,07 (2*s*, $\text{H}-\text{C}(8'')$). ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): 20,17 (*dt*, $J_p = 7,1$, CH_2CN); 20,46 (*dt*, $J_p = 7,3$, CH_2CN); 24,28, 24,35, 24,46, 24,51, 24,54, 24,57, 24,63, 24,71 (8*q*, Me_2CH); 30,62, 30,98 (2*dt*, $J_p = < 4$, $\text{C}(3'')$); 31,15, 31,26 (2*t*, $\text{C}(2'')$); 43,01, 43,12, 43,24 (3*d*, Me_2CH); 55,16, 55,23 (2*q*, MeO); 57,66 (*dt*, $J_p = 20,2$, CH_2O); 58,33 (*dt*, $J_p = 19,0$, CH_2O); 63,30, 63,55 (2*t*, $\text{C}(6'')$); 67,13 (*dd*, $J_p = 17,3$, $\text{C}(4'')$); 67,82, 67,84 (2*t*, $\text{CH}_2(\text{Allyl})$); 67,96 (*dd*, $J_p = 13,1$, $\text{C}(4'')$); 68,74 (*t*, $\text{CH}_2(\text{Allyl})$); 81,42 (*dd*, $J_p = 10,4$, $\text{C}(5'')$); 81,51 (*dd*, $J_p = 6,3$, $\text{C}(5'')$); 81,61, 81,70 (2*d*, $\text{C}(1'')$); 85,80 (*s*, $\text{C}-\text{O}-\text{C}(6'')$); 112,93 (*d*, arom. C); 117,32, 117,59, 117,61 (3*s*, CN, $\text{C}(5'')$); 118,26, 118,63, 118,66

(3*t*, CH₂(Allyl)); 126,65, 126,76, 127,67, 128,33, 128,49, 130,19, 130,26, 130,30, 130,36 (9*d*, arom. C); 132,39, 132,42, 133,03, 133,04, (4*d*, CH(Allyl)); 136,00, 136,09, 136,13, 136,22 (4*s*, arom. C); 138,38, 138,45 (2*d*, C(8)); 144,79, 144,98 (2*s*, arom. C); 153,02, 153,05 (2*s*, C(2/4/6)); 158,39, 158,45 (2*s*, arom. C); 160,84, 161, 26 (2*s*, C(2/4/6)). ³¹P-NMR (162 MHz, CDCl₃): 148,65; 148,80. FAB-MS (positiv; 3-NOBA): 865 (< 1, [M + H]⁺), 303 (100), 233 (20), 201 (13).

2-Benzoyloxy-9-[4'-O-[(2-cyanoethoxy)(diisopropylamino)phosphino]-2',3'-dideoxy-6'-O-[[bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methyl]-β-D-glucopyranosyl]-6-[[dibutylamino)methylidene]amino]purin (38). Zu einer Lsg. von 549 mg (0,68 mmol) 31 in 4 ml THF gab man unter Ar 0,35 ml (2,03 mmol) (i-Pr)₂EtN und 0,24 ml (1,02 mmol) Chloro(2-cyanoethoxy)(diisopropylamino)phosphin. Nach 1 h Rühren bei RT. wurde die Lsg. unter N₂ filtriert und eingengt. Der Rückstand wurde in 4 ml AcOEt gelöst und bei 0° an Kieselgel mit 2% (i-Pr)₂EtN in AcOEt/Hexan 5:1 chromatographiert. Die produktthaltigen Fraktionen wurden zusammengefasst und eingengt. Der Rückstand wurde fünfmal aus jeweils 3 ml AcOEt in 100 ml Hexan gefällt. Zur Niederschlag wurde dann in CH₂Cl₂ gelöst, eingengt und i. HV. getrocknet. Man erhielt 389 mg (57%) 38 als weissen Feststoff. DC (Kieselgel, AcOEt): R_f 0,68, 0,74. IR (CHCl₃): 3060*w*, 2960*s*, 2250*w*, 1620*w*, 1610*w*, 1605*s*, 1510*s*, 1250*s*, 1035*s*. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 0,88–0,97 (*m*, 9 H, Me(i-Pr/Bu)); 1,08–1,16 (*m*, 9 H, Me₂CH); 1,30–1,43 (*m*, 2 CH₂(Bu)); 1,57–1,69 (*m*, 2 CH₂(Bu)); 1,81 (*m*, 1 H, H–C(2'/3')); 2,04 (*m*, 1 H, H–C(2'/3')); 2,21–2,42 (*m*, 3 H, H–C(2'), H–C(3'), CH₂CN); 2,58 (*t*, *J* = 6,3, 1 H, CH₂CN); 3,26–3,52 (*m*, 7 H, H–C(5'), Me₂CH, CH₂(Bu), CH₂CN); 3,74–3,76 (4*s*, 2 MeO); 3,62–3,82 (*m*, 4,5 H, H–C(4'), H–C(6'), CH₂O); 3,91–4,04 (*m*, 0,5 H, H–C(4')); 5,44 (*s*, CH₂(Bn)); 5,79–5,84 (*m*, H–C(1')); 6,72–6,78 (*m*, 4 arom. H); 7,12–7,35 (*m*, 10 arom. H); 7,44–7,52 (*m*, 4 arom. H); 8,02, 8,03 (2*s*, H–C(8)); 8,90 (*s*, N=CH). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): 13,7, 13,9 (2*q*, Me(Bu)); 19,8 (*t*, CH₂(Bu)); 20,1 (*t*, CH₂CN); 20,2 (*t*, CH₂(Bu)); 20,5 (CH₂CN); 24,3, 24,3, 24,5, 24,5, 24,6, 25,5, 24,6, 24,7 (8*q*, MeCH); 29,3, 31,0 (2*t*, CH₂(Bu)); 30,8, 31,0, 31,1, 31,2 (4*t*, C(2'), C(3')); 43,0, 43,1, 43,2 (3*d*, Me₂CH); 45,2, 51,8 (2*t*, CH₂(Bu)); 55,2 (2*q*, MeO); 57,7, 58,4 (2*dt*, CH₂O); 63,3, 63,6 (2*t*, C(6')); 67,3, 68,2 (2*dd*, C(4')); 69,1 (*t*, CH₂(Bn)); 81,4, 81,5 (2*dd*, C(5')); 81,6 (*d*, C(1')); 85,8 (*s*, C–O–C(6')); 112,9 (*d*, arom. C); 117,6 (*s*, CN); 122,4 (*s*, C(5)); 126,6, 126,7, 127,6, 127,7, 128,2, 128,2, 128,4, 128,5, 130,2, 130,3, 130,4, 136,1, 136,2, 136,2, 136,3 (15*d*, arom. C); 137,6, 137,6 (2*s*, arom. C); 137,9, 137,9 (2*d*, C(8)); 144,8, 150,0 (2*s*, arom. C); 152,6, 152,6 (2*s*, C(4)); 158,2 (*s*, arom. C); 158,4, 158,4 (2*d*, N=CH); 160,9, 161,0, 161,4, 161,4 (4*s*, C(2'), C(6')). ³¹P-NMR (162 MHz, CDCl₃): 148,70; 148,75. FAB-MS (positiv; 3-NOBA): 1013 (11, [M + H]⁺), 381 (35), 303 (100), 91 (34). Anal. ber. für C₅₇H₇₃N₈O₇P (1013,24): C 67,6, H 7,2, N 11,0; gef.: C 67,5, H 7,3, N 11,0

2-Allyloxy-6-benzamido-9-[4'-O-[(2-cyanoethoxy)(diisopropylamino)phosphino]-2',3'-dideoxy-6'-O-[[bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methyl]-β-D-glucopyranosyl]purin (39). Zu einer Lsg. von 1,30 g (1,79 mmol) 32 in 12 ml abs. THF gab man unter Ar 0,92 ml (5,36 mmol) (i-Pr)₂EtN und 0,57 ml (2,68 mmol) Chloro(2-cyanoethoxy)(diisopropylamino)phosphin. Nach 5 min Rühren bei RT. fiel ein weisser Niederschlag aus. Man liess während 30 min weiterrühren und nahm das Gemisch anschliessend in 80 ml CH₂Cl₂ auf. Diese Lsg. wurde 2mal mit je 80 ml eisgekühlter ges. NaHCO₃-Lsg. gewaschen. Die wässr. Phasen wurden 2mal mit je 80 ml CH₂Cl₂ rückextrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden getrocknet (MgSO₄) und eingengt. Der Rückstand wurde in 2 ml CH₂Cl₂ gelöst und unter Kühlung an Kieselgel mit CH₂Cl₂/Aceton 10:1 chromatographiert. Die produktthaltigen Fraktionen wurden vereinigt, eingengt und getrocknet. Man erhielt 1,41 g (1,52 mmol, 85%) 39 als weissen Schaum. DC (Kieselgel, CH₂Cl₂/Aceton 4:1): R_f 0,70. UV (EtOH): 233 (34400), 285 (14900). IR (KBr): 3420*m*, 3380*m*, 3080*m* (sh), 3060*m*, 3030*m*, 2960*s*, 2930*m*, 2880*m*, 2840*m*, 2250*w*, 1710*m*, 1620*s*, 1610*s*, 1590*s*, 1510*s*, 1480*m*, 1460*s*, 1445*s*, 1405 (sh), 1390*s*, 1365*m*, 1335*s*, 1300*m*, 1250*s*, 1200*m*, 1180*s*, 1155*m*, 1120*s*, 1105*s* (sh), 1090*s* (sh), 1080*s*, 1065*s*, 1035*s*, 1000*m*, 980*s*, 920*m*, 900*m*, 880*m*, 830*m*, 820*m* (sh), 790*m*, 775*m*, 735*m* (sh), 730*m*, 710*m*, 670*w*, 640*m*, 625*w*. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 0,91 (*d*, *J* = 6,8, 3 H, Me₂CH); 0,99–1,17 (*m*, 9 H, Me₂CH); 1,75–1,90 (*m*, 2 H, H–C(2'), H–C(3')); 2,02–2,09 (*m*, 1 H, H–C(2')); 2,27–2,46 (*m*, 2 H, H–C(3'), CH₂CN); 2,59 (*t*, *J* = 6,1, 1 H, CH₂CN); 3,26–3,51 (*m*, H–C(5'), 2 H–C(6'), 2 Me₂CH); 3,61–3,68 (*m*, 0,5 H, H–C(4')); 3,75–3,84 (*m*, 8 H, CH₂O, MeO); 3,94–4,15 (*m*, 0,5 H, H–C(4')); 4,92–4,94 (*m*, CH₂(Allyl)); 5,25–5,28 (*m*, 1 H, CH₂(Allyl)); 5,42–5,47 (*m*, 1 H, CH₂(Allyl)); 5,78 (*dd*, *J* = 2,2, 9,5, H–C(1')); 6,07–6,18 (*m*, CH(Allyl)); 6,74–6,79 (*m*, 4 arom. H); 7,14–7,46 (*m*, 9 arom. H); 7,50–7,62 (*m*, 3 arom. H); 8,00 (*d*, *J* = 7,4, 1 arom. H); 8,14, 8,16 (2*s*, H–C(8)); 8,87 (br. *s*, NH). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): 20,2 (*dt*, CH₂CN); 20,5 (*dt*, CH₂CN); 24,27, 24,36, 24,46, 24,51, 24,55, 24,58, 24,62, 24,71 (8*q*, Me₂CH); 30,6, 30,9 (2*t*, C(2')); 31,1, 31,2 (2*t*, C(3')); 43,0, 43,1, 43,2 (3*d*, Me₂CH); 55,18, 55,24 (2*q*, MeO); 57,7 (*dt*, CH₂O); 58,3 (*dt*, CH₂O); 63,2, 63,5 (2*t*, C(6')); 67,1 (*dd*, C(4')); 68,0 (*dd*, C(4')); 68,7 (*t*, CH₂(Allyl)); 81,5, 81,6, 81,7 (3*d*, C(1'), C(5')); 87,2 (*s*, C–O–C(6')); 113,0 (*d*, arom. C); 117,6 (*s*, CN); 118,2 (*t*, CH₂(Allyl)); 119,0 (*s*, C(5)); 127,7, 127,9, 128,3, 128,5, 128,8, 130,2, 130,25, 130,28, 130,4, 132,7, 132,9, 133,7 (12*d*, arom. C, CH(Allyl)); 136,0, 136,1, 136,2 (3*s*, arom. C); 139,26, 139,34 (2*d*, arom. C); 144,7, 144,9 (2*s*, arom. C); 150,1 (*s*, C(4)); 153,5 (2*s*, C(6)); 158,4 (*s*, arom. C); 151,1 (*s*, C(2)); 164,7 (*s*, CO). ³¹P-NMR (162 MHz, CDCl₃): 148,6; 148,9. FAB-MS (positiv;

3-NOBA): 928 (M^+), 406 (11), 304 (38), 303 (100), 297 (10), 296 (40), 243 (24), 242 (80), 201 (17), 184 (11), 142 (14), 105 (42). Anal. ber. für $C_{51}H_{58}N_7O_8P$ (928,05): C 66,0, H 6,4, N 10,6, P 3,3; gef.: C 65,5, H 6,4, N 10,3, P 3,5.

9- $\{4\text{-}O\text{-}[(2\text{-Cyanoethoxy})\text{(diisopropylamino)phosphino}]\text{-}2',3'\text{-dideoxy } 6'\text{-}O\text{-}[bis(4\text{-methoxyphenyl})(phenyl)methyl]\text{-}\beta\text{-D-glucopyranosyl}\}\text{hypoxanthin}$ (**40**). Eine Suspension von 569 mg (1,00 mmol) **33** in 10 ml abs. THF wurde unter Ar mit 514 μ l (388 mg, 3,0 mmol) (i-Pr)₂EtN und 330 μ l (355 mg, 1,5 mmol) Chloro(2-cyanoethoxy)(diisopropylamino)phosphin versetzt und bei RT. gerührt. Nach 5 min lag eine homogene, farblose Lsg. vor, nach 20 min begann ein weisser Niederschlag auszufallen. Nach 1 h wurde das Gemisch eingengt, in 2 ml CH_2Cl_2 /MeOH 19:1 aufgenommen und an Kieselgel mit 1% Et₃N in CH_2Cl_2 /MeOH 19:1 chromatographiert. Die produktthaltigen Fraktionen wurden zusammengefasst, bei RT. eingengt und i. HV. getrocknet. Es wurden 738 mg (960 μ mol, 96%) von **40** in Form eines farblosen Schaumes erhalten. DC (Kieselgel, CH_2Cl_2 /MeOH 19:1): R_f 0,35. UV (CH_2Cl_2): 237 (20000), 270 (sh). IR (KBr): 3430m (br.), 3110 (sh), 3090 (sh), 3060m, 3030 (sh), 2965s, 2930m, 2870m, 2830m, 2250w, 1705s, 1685 (sh), 1605s, 1585s, 1545s, 1510s, 1460m, 1445m, 1415m, 1395w, 1375w, 1365m, 1340w, 1310 (sh), 1300m, 1250s, 1220m, 1200m, 1180s, 1155m, 1125 (sh), 1115m, 1080s, 1065 (sh), 1035s, 1000m, 980s, 950w, 915 (sh), 900m, 880w, 825s, 790s, 755m, 725m, 705m, 605w, 610w, 585m, 525w. ¹H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 0,91, 1,04, 1,06, 1,15 (4d, 2 Me_2CH); 1,83 (m, 1 H, H-C(3')); 2,07 (m, 1 H, H-C(2')); 2,31 (m, 1 H, CH_2CN); 2,33 (m, 1 H, H-C(2')); 2,43 (m, 1 H, H-C(3')); 2,60 (t, $J = 6,2$, 1 H, CH_2CN); 3,29 (dd, $J = 5,7$, 10,8, 1 H, H-C(6')); 3,35 (q, $J = 6,6$, 1 H, CH_2O); 3,42–3,54 (m, 3 H, H-C(6'), Me_2CH); 3,65 (m, 0,5 H, H-C(4')); 3,75, 3,76, 3,76, 3,77 (4s, 2 MeO); 3,78–3,85 (m, 2 H, CH_2O , H-C(5')); 4,02 (m, 0,5 H, H-C(4')); 5,84 (d, $J = 10,7$, H-C(1')); 6,77 (m, 2 arom. H); 7,14–7,26 (m, 3 arom. H); 7,33 (m, 4 arom. H); 7,45 (m, 4 arom. H); 8,11, 8,14 (2s, H-C(2)); 8,21 (br. s, H-C(8)). ¹³C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): 20,2 (dt, $J_p = 7,4$, CH_2CN); 20,5 (dt, $J_p = 7,7$, CH_2CN); 24,3, 24,4, 24,5, 24,5, 24,6, 24,6, 24,6, 24,7 (8q, Me_2CH); 30,6, 30,9 (2t, C(2')); 31,5, 31,6 (2t, C(3')); 43,1, 43,2 (2d, Me_2CH); 55,2, 55,3 (2q, MeO); 55,7 (dt, $J_p = 20,4$, CH_2O); 58,3 (dt, $J_p = 19,1$, CH_2O); 63,2, 63,5 (2t, C(6')); 67,1 (dd, $J_p = 17,3$, C(4')); 67,9 (dd, $J_p = 12,9$, C(4')); 81,5 (d, C(1')); 81,6 (dd, $J_p = 6,7$, C(5')); 82,0 (dd, $J_p = 6,4$, C(5')); 85,9, 85,9, (2s, C–O–C(6')); 113,0 (d, arom. C); 117,6, 117,6 (2s, CN); 124,7 (s, C(5)); 126,7, 126,8, 127,9, 128,3, 128,5, 130,2, 130,3, 130,3, 130,3 (9d, arom. C); 136,0, 136,1, 136,1, 136,2 (4s, arom. C); 137,7, 137,8 (2d, C(8)); 144,8, 145,0 (2s, arom. C); 145,0, 145,1 (2d, C(2)); 148,3, 148,4 (2s, C(4)); 158,4, 158,5 (2s, arom. C); 159,4 (s, C(6)). ³¹P-NMR (162 MHz, $CDCl_3$): 148,7; 148,9. FAB-MS (positiv; 3-NOBA): 769 (0,3, $[M + H]^+$), 304 (29), 303 (100), 247 (11), 137 (14), 55 (11).

6-Allyloxy-2-benzamido-9- $\{4\text{-}O\text{-}[(2\text{-cyanoethoxy})\text{(diisopropylamino)phosphino}]\text{-}2',3'\text{-dideoxy } 6'\text{-}O\text{-}[bis(4\text{-methoxyphenyl})(phenyl)methyl]\text{-}\beta\text{-D-glucopyranosyl}\}\text{-}7\text{-carbapurin}$ (**41**). Eine Lsg. von 500 mg (0,688 mmol) **34** in 5 ml CH_2Cl_2 wurde mit 197 mg (1,44 mmol) (i-Pr)₂EtN und 163 mg (0,86 mmol) Chloro(2-cyanoethoxy)(diisopropylamino)phosphin versetzt und 45 min bei RT. gerührt. Anschliessend wurden 0,1 ml MeOH bei 0° zugegeben, 10 min gerührt und hierauf zwischen verdünnter $NaHCO_3$ -Lsg. und CH_2Cl_2 verteilt. Die wässr. Phase wurde mit CH_2Cl_2 zurückextrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden getrocknet (Na_2SO_4), filtriert und eingengt. Der Rückstand wurde in 2 ml CH_2Cl_2 aufgenommen und unter Rühren zu 200 ml Hexan bei 0° getropft. Das dabei ausgefallte Produkt wurde abfiltriert. Es wurden 510 mg (80%) **41** als weisses Pulver erhalten. DC (Kieselgel, CH_2Cl_2 /Aceton 18:1): R_f 0,50, 0,55. ¹H-NMR (400 MHz, CD_2Cl_2): 0,91, 1,07, 1,12, 1,15 (4d, 2 Me_2CH); 1,80–1,90 (m, 1 H-C(3')); 2,03–2,20 (m, 2 H-C(2')); 2,31 (dt, $J = 2,2$, 6,3, 1 H, CH_2CN); 2,35–2,45 (m, 1 H-C(3')); 2,60 (t, $J = 6,3$, 1 H, CH_2CN); 3,12–3,22 (m, 1 H-C(6')); 3,30–4,07 (m, H-C(4'), H-C(5'), H-C(6'), 2 Me_2CH , CH_2O); 3,71, 3,72, 3,73, 3,74 (4s, 2 MeO); 4,98–5,00 (m, $CH_2(Allyl)$); 5,27–5,31 (m, 1 H, $CH_2(Allyl)$); 5,43–5,49 (m, 1 H, $CH_2(Allyl)$); 5,98–6,01 (m, H-C(1')); 6,16 (ddt, $J = 5,6$, 10,3, 17,2, $CH(Allyl)$); 6,60, 6,61 (2d, $J = 2,4$, H-C(7)); 6,69–6,78 (m, 4 arom. H); 7,11–7,34 (m, 7 arom. H, H-C(8)); 7,42–7,59 (m, 5 arom. H); 7,86–7,89 (m, 2 arom. H); 8,41, 8,42 (2s, NH). ¹³C-NMR (125 MHz, CD_2Cl_2): 20,60 (dt, $J_p = 7,1$, CH_2CN); 20,86 (dt, $J_p = 7,3$, CH_2CN); 24,45, 24,52, 24,66, 24,70, 24,78, 24,96 (6q, Me_2CH); 30,07, 31,07 (2t, C(2')); 31,33, 31,60 (2t, C(3')); 43,48, 43,55 (2d, Me_2CH); 55,49, 55,66 (2q, MeO); 58,21 (dt, $J_p = 20,1$, CH_2O); 58,64 (dt, $J_p = 18,5$, CH_2O); 64,02, 64,22 (2t, C(6')); 67,54 (t, $CH_2(Allyl)$); 67,87 (dd, $J_p = 16,9$, C(4')); 68,49 (dd, $J_p = 13,2$, C(4')); 81,26, 81,32, 81,38 (3d, C(1'), C(5')); 86,10, 86,15 (2s, C–O–C(6')); 99,85, 99,90 (2d, C(7)); 102,76, 102,78 (2s, C(5)); 113,41, 113,74 (2d, arom. C); 118,20 (s, CN); 122,60, 122,64 (2d, C(8)); 126,93, 127,02, 127,19, 128,02, 128,19, 128,58, 128,69, 128,85, 129,04, 130,59, 130,63, 130,67, 130,71, 132,21 (15d, arom. C); 133,40, 133,47 (2d, $CH(Allyl)$); 135,69, 136,61, 136,64, 136,67 (4s, arom. C); 145,61, 145,67 (2s, arom. C); 151,96 (s, C(4)); 152,88, 152,96 (2s, C(2)); 158,85, 158,95 (2s, arom. C); 162,98 (s, C(6)); 165,44 (s, CO). ³¹P-NMR (162 MHz, $CDCl_3$): 148,1; 148,5. FAB-MS (positiv; 3-NOBA): 927 (0,3, $[M + H]^+$), 404 (22), 304 (41), 303 (100), 295 (11), 201 (15), 147 (10), 105 (37), 73 (17).

7. Exper. zu Fig. 10. Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV) zur Herstellung der 4-Nitrophenylester **28a–34a**. Zu einer 0,25–0,5M Lsg. des jeweiligen Dimethoxytrityl-Derivates **28–34** in Pyridin (bei **31**: 2,6-Lutidin anstelle von

Pyridin) wurden 0,5–1,0 equiv. DMAP und 1,0–3,7 equiv. Bernsteinsäureanhydrid zugegeben und das Gemisch während 18–33 h bei RT. gerührt. Danach wurde i. RV. eingengt und verbliebenes Pyridin zusammen mit wenig Toluol abgedampft. Das Rohgemisch wurde anschliessend in CH_2Cl_2 aufgenommen und mit 10% Zitronensäure-Lsg. extrahiert. Die wässr. Phase wurde mit CH_2Cl_2 rückextrahiert und die vereinigten org. Phasen getrocknet (Na_2SO_4), eingedampft und mehrere Stunden i. HV. bei RT. getrocknet. Der so erhaltene Bernsteinsäuremonoester wurde ohne weitere Reinigung in Dioxan/Pyridin (bei **31**: 2,6-Lutidin anstelle von Pyridin) 10:1 oder 20:1 zu einer Konzentration von 0,17–0,25M gelöst, mit 1,0–1,2 equiv. *p*-Nitrophenol sowie 2,0–2,5 equiv. DCC versetzt und während 1–3 h bei RT. gerührt. Danach wurde der gebildete *N,N'*-Dicyclohexylharnstoff abfiltriert, mit wenig Dioxan gewaschen und das Filtrat eingengt und durch Koevaporation mit wenig Toluol von Pyridin-Resten befreit. Der so erhaltene Rückstand wurde an Kieselgel chromatographiert, die produkthaltigen Fraktionen vereinigt, eingedampft und bei RT./HV. zu einem Schaum getrocknet.

2,6-Dibenzamido-9-{2',3'-dideoxy-6'-O-[bis(4'-methoxyphenyl)(phenyl)methyl]-4'-O-[4-O-(4-nitrophenyl)succinyl]- β -D-glucopyranosyl}purin (28a). DC (Kieselgel, Hexan/AcOEt 1:10): R_f 0,42. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 1,05–2,83 (*m*, 8 H, H–C(2'), H–C(3'), CH_2 (Succinyl), Fremdsignale); 3,18 (*dd*, $J = 4,2, 10,6$, 1 H–C(6')), Fremdsignal); 3,33 (*dd*, $J = 2,3, 10,2$, 2 H, Fremdsignal); 3,35 (*dd*, $J = 2,0, 10,5$, 1 H–C(6')); 3,743, 3,747 (2*s*, 2 MeO); 3,751, 3,755 (2*s*, 12 H, Fremdsignale); 3,87 (*br. m*, 1 H, H–C(5')), Fremdsignale); 5,08 (*dt*, $J = 4,4, 10,5$, 2 H, H–C(4')), Fremdsignal); 5,14 (*dt*, $J = 4,2, 10,5$, 1 H, H–C(4')); 5,98 (*br. d*, $J = 11,0$, 1 H, H–C(1')), Fremdsignal); 6,77–6,80 (*m*, 4 arom. H); 7,16–7,62 (*m*, 19 arom. H); 7,96–7,98 (*m*, 2 arom. H); 8,04 (*m*, 2 arom. H); 8,21 (*br. s*, 1 H, Fremdsignal); 8,22 (*br. s*, H–C(8)); 8,25 (*m*, 2 arom. H). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): 26,21, 27,97, 28,92, 29,16, 31,20, 24,68, 24,73, 25,36, 25,42, 29,42, 29,61, 30,69, 30,87, 32,54, 32,68, (15*r*, C(2'), C(3')), CH_2 (Succinyl), Fremdsignale); 49,97 (*d*, Fremdsignal); 55,21 (*q*, MeO); 62,09 (*t*, Fremdsignal); 62,27 (*t*, C(6')); 67,35 (*d*, Fremdsignal); 67,55 (*d*, C(4')); 79,15, 81,64 (2*d*, C(1'), C(5')); 85,89 (*s*, C–O–C(6')); 113,09 (*d*, arom. C); 119,75 (*s*, C(5)); 122,37 (*d*, arom. C); 125,26 (*d*, arom. C); 126,80, 127,63, 127,79, 127,90, 128,20, 128,75, 128,93, 130,04, 130,11 (9*d*, arom. C); 132,35, 132,96, 133,46, 134,35, 135,76, 135,96 (6*s*, arom. C); 139,95 (*d*, C(8)); 144,58, 145,43, 155,26, 158,48 (4*s*, arom. C); 164,81, 165,38 (2*s*, CO(Bz)); 169,80, 170,74 (2*s*, CO(Succinyl)); 172,28 (*s*, Fremdsignal). FAB-MS (positiv; 3-NOBA): 1012 (1, [$M + H$]⁺), 359 (53), 303 (100), 105 (42), 77 (16), 55 (14).

2,6-Dibenzoyloxy-9-{2',3'-dideoxy-6'-O-[bis(4'-methoxyphenyl)(phenyl)methyl]-4'-O-[4-O-(4-nitrophenyl)succinyl]- β -D-glucopyranosyl}purin (29a). DC (Kieselgel, Hexan/AcOEt 1:1): R_f 0,27. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): 1,21–2,79 (*m*, 8 H, H–C(2'), H–C(3'), CH_2 (Succinyl), Fremdsignale); 3,16 (*dd*, $J = 4,2, 10,5$, 1 H, Fremdsignal); 3,31 (*m*, 2 H–C(6')); 3,73, 3,74 (2*s*, 2 MeO); 3,745, 3,75 (2*s*, 6 H, Fremdsignal); 3,81 (*ddd*, $J = 1,8, 3,9, 9,7$, H–C(5')); 5,04 (*dt*, $J = 4,7, 10,3$, 2 H, Fremdsignal); 5,12 (*dt*, $J = 4,8, 10,7$, H–C(4')); 5,45 (*s*, CH_2 (Bn)); 5,63 (*s*, CH_2 (Bn)); 5,79 (*dd*, $J = 1,6, 10,3$, 2 H, Fremdsignal); 5,81 (*dd*, $J = 2,4, 10,8$, H–C(1')); 6,76 (*m*, 4 arom. H); 7,14–7,51 (*m*, 21 arom. H); 8,02 (*s*, H–C(8)); 8,04 (*s*, 2 H, Fremdsignal); 8,24 (*m*, 2 arom. H). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): 24,67, 25,35, 25,42, 26,20, 28,13, 28,89, 29,14, 29,39, 29,59, 30,65, 30,89, 32,35, 32,67 (13*r*, C(2'), C(3')), CH_2 (Succinyl), Fremdsignale); 49,97 (*d*, Fremdsignal); 55,19 (*q*, MeO); 62,24 (*t*, Fremdsignal); 62,44 (*t*, C(6')); 67,38 (*d*, Fremdsignal); 67,59 (*d*, C(4')); 68,75, 69,75 (2*r*, CH_2 (Bn)); 79,21, 81,67 (2*d*, C(1'), C(5')); 85,88 (*s*, C–O–C(6')); 113,04 (*d*, arom. C); 117,38 (*s*, C(5)); 122,36, 125,34 (2*d*, arom. C); 126,79, 127,77, 128,02, 128,10, 128,20, 128,46 (6*d*, arom. C); 135,76, 135,93, 136,03, 136,74 (4*s*, arom. C); 138,35 (*d*, C(8)); 144,57, 145,44, 153,11, 155,25, 158,47, 160,94, 161,34 (7*s*, C(2), C(4), C(6), arom. C); 169,82, 170,72, 172,28 (3*s*, CO). FAB-MS (positiv; 3-NOBA): 1008 (6, [$M + H$]⁺), 355 (1), 303 (100), 107 (10), 105 (12), 95 (18), 92 (64), 81 (21), 69 (20).

2,6-Diallyloxy-9-{2',3'-dideoxy-6'-O-[bis(4'-methoxyphenyl)(phenyl)methyl]-4'-O-[4-O-(4-nitrophenyl)succinyl]- β -D-glucopyranosyl}purin (30a). DC (Kieselgel, Hexan/AcOEt 1:10): R_f 0,66. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): 1,05–2,83 (*m*, 8 H, H–C(2'), H–C(3'), CH_2 (Succinyl), Fremdsignale); 3,16 (*dd*, $J = 4,3, 10,5$, 1 H–C(6')); 3,31 (*dd*, $J = 1,9, 10,5$, 1 H–C(6')); 3,751, 3,755 (2*s*, 2 MeO); 3,759, 3,762 (2*s*, Fremdsignale); 3,82 (*ddd*, $J = 2,0, 4,1, 9,8$, H–C(5')); 4,91 (*dt*, $J = 1,3, 5,8$, CH_2 (Allyl)); 5,06 (*dt*, $J = 4,5, 10,5$, Fremdsignal); 5,10 (*dt*, $J = 1,3, 5,8$, CH_2 (Allyl)); 5,12 (*dt*, $J = 4,7, 10,9$, H–C(4')); 5,27, 5,31 (2*ddd*, $J = 1,3, 2,8, 10,4$, 2 CH(Allyl)); 5,42, 5,47 (2*ddd*, $J = 1,3, 2,8, 17,3$, CH(Allyl)); 5,80 (*dd*, $J = 2,1, 11,0$, Fremdsignal); 5,81 (*dd*, $J = 2,4, 10,8$, H–C(1')); 6,07–6,21 (*m*, CH(Allyl)); 6,77 (*m*, 4 arom. H); 7,16–7,42 (*m*, 11 arom. H); 8,03 (*s*, Fremdsignal); 8,04 (*s*, H–C(8)); 8,25 (*m*, 2 arom. H). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): 24,71, 25,35, 25,42, 26,20, 28,13, 28,89, 29,14, 29,39, 29,59, 30,65, 30,89, 32,51, 32,67 (13*r*, C(2'), C(3')), CH_2 (Succinyl), Fremdsignale); 49,97 (*d*, Fremdsignal); 55,20 (*q*, MeO); 62,23 (*t*, Fremdsignal); 62,42 (*t*, C(6')); 67,38 (*d*, Fremdsignal); 67,59 (*d*, C(4')); 67,90, 68,79 (2*r*, CH_2 (Allyl)); 79,22, 81,61 (2*d*, C(1'), C(5')) 85,83 (*s*, Fremdsignal); 85,87 (*s*, C–O–C(6')); 113,04 (*d*, arom. C); 117,24 (*s*, C(5)); 118,32, 118,32 (2*r*, CH_2 (Allyl)); 122,35, 125,25, 126,79, 127,77, 128,20, 130,03, 130,09 (7*d*, arom. C); 132,32, 132,95 (2*d*, CH(Allyl)); 135,76, 135,92 (2*s*, arom. C); 138,27 (*d*, C(8)); 138,32

(*d*, Fremdsignal); 144.57, 145.42, 153.05, 155.24, 160.88, 161.27 (6*s*, arom. C, C(2), C(4), C(6)); 169.82, 170.74, 172.28 (3*s*, CO).

2-Allyloxy-6-[(dibutylamino)methyliden]amino]-9-{2',3'-dideoxy-6'-O-[bis(4'-methoxyphenyl)(phenyl)methyl]-4'-O-[4-O-(4-nitrophenyl)succinyl]-β-D-glucopyranosyl}purin (**31a**). DC (Kieselgel, Hexan/ACOEt 1:2); R_f 0.23. IR (KBr): 3420*m* (br.), 3060*w*, 3020*w*, 1700*m*, 1655*m*, 1605*s*, 1560*s*, 1510*s*, 1410*s*, 1340*s*, 1250*s*. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): 0.94–0.97 (*m*, 2 Me(Bu)); 1.31–1.42 (*m*, 2 CH₂(Bu)); 1.58–2.82 (*m*, CH₂(Bu), H–C(2'), H–C(3'), CH₂(Succinyl)); 3.12–3.17 (*m*, 1 H–C(6')); 3.30–3.39 (*m*, 1 H–C(6'), CH₂(Bu)); 3.56–3.83 (*m*, 9 H, H–C(5'), CH₂(Bu), MeO); 5.10–5.16 (*m*, 1 H, H–C(4')); 5.45 (*s*, CH₂(Bn)); 5.80–5.83 (*m*, H–C(1')); 6.76–6.78 (*m*, 4 arom. H); 7.14–7.49 (*m*, 16 arom. H); 8.02 (*s*, H–C(8)); 8.23–8.29 (*m*, 2 arom. H); 8.91 (*s*, N=CH). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): 13.7 (*q*, Me(Bu)); 13.9 (*q*, Me(Bu)); 19.8, 20.2, 22.6, 26.2, 28.2, 28.9, 29.3, 31.0 (8*t*, CH₂(Bu), CH₂(Succinyl), C(2), C(3')); 45.2, 51.8, 2(*t*, CH₂(Bu)); 55.2 (*q*, MeO); 62.3 (*t*, C(6')); 67.7 (*d*, C(4')); 69.1 (*t*, CH₂(Bu)); 79.1 (*d*, C(5')); 81.4 (*d*, C(1')); 85.8 (*s*, C–O–C(6')); 113.1 (*d*, arom. C); 122.4 (*s*, C(5)); 125.2, 126.7, 127.7, 127.8, 128.1, 128.2, 128.3, 130.0, 130.05, 130.09 (10*d*, arom. C); 135.8, 136.0, 137.5 (3*s*, arom. C); 137.7 (*d*, C(8)); 144.6, 145.4 (2*s*, arom. C); 152.6 (*s*, C(4)); 155.3, 158.3 (2*s*, arom. C); 158.4 (*d*, N=CH); 160.9 (*s*, C(6)); 161.4 (*s*, C(2)); 169.8, 170.7 (2*s*, CO); FAB-MS (positiv; 3-NOBA): 1051 (1, [M + H]⁺), 381 (65), 379 (12), 304 (37), 303 (100), 289 (11), 182 (6), 140 (18), 91 (44).

2-Allyloxy-6-benzamido-9-{2',3'-dideoxy-6'-O-[bis(4'-methoxyphenyl)(phenyl)methyl]-4'-O-[4-O-(4-nitrophenyl)succinyl]-β-D-glucopyranosyl}purin (**32a**). DC (Kieselgel, Aceton/CH₂Cl₂ 1:4); R_f 0.70. IR (KBr): 3410*m*(br.), 3325*m*, 3115*w*, 3080*m*(sh), 3060*m*, 3030*m*, 3000*m*, 2930*s*, 2920*s*(sh), 2850*m*, 2660*w*, 2040*w*, 1770*m*, 1740*m*, 1710*m*, 1625*s*, 1610*s*(sh), 1585*s*, 1525*s*, 1510*s*, 1490*s*, 1460*s*, 1445*s*, 1410*m*, 1390*s*, 1345*s*, 1335*s*(sh); 1310*s*, 1300*s*(sh), 1245*s*, 1205*s*, 1180*s*, 1160*m*, 1125*s*, 1090*s*, 1030*m*, 1010*m*, 1000*m*, 970*m*, 955*m*, 940*m*, 920*m*, 895*m*, 865*m*, 830*m*, 792*m*, 775*w*, 750*m*, 740*w*(sh), 730*m*, 705*m*, 670*m*, 660*m*, 640*m*. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): 1.66–1.80 (*m*, 2 H, H–C(2'), H–C(3')); 2.11–2.21 (*m*, 1 H, H–C(2'/3')); 2.31–2.47 (*m*, 1 H, H–C(2'/3')); 2.41–2.48 (*m*, 1 H, CH₂(Succinyl)); 2.57–2.65 (*m*, 1 H, CH₂(Succinyl)); 2.70–2.84 (*m*, CH₂(Succinyl)); 3.18 (*dd*, *J* = 4.2, 10.5, 1 H–C(6')); 3.33 (*dd*, *J* = 1.9, 10.5, 1 H–C(6')); 3.83 (*ddd*, *J* = 2.0, 4.1, 9.8, H–C(5')); 3.75, 3.76 (2*s*, 2 MeO); 4.92 (*dq*, *J* = 1.3, 5.8, 1 H, CH₂(Allyl)); 5.12 (*dq*, *J* = 1.3, 10.4, 1 H, CH₂(Allyl)); 5.44 (*dq*, *J* = 1.5, 17.2, 1 H, CH₂(Allyl)); 5.86 (*dd*, *J* = 2.2, 10.8, H–C(1')); 6.11 (*ddt*, *J* = 5.7, 10.4, 17.2, CH(Allyl)); 6.78 (*m*, 4 arom. H); 7.16–7.29 (*m*, 9 arom. H); 7.41–7.43 (*m*, 2 arom. H); 7.50–7.53 (*m*, 2 arom. H); 7.58–7.62 (*m*, 1 arom. H); 7.89–8.01 (*m*, 2 arom. H); 8.14 (*s*, H–C(8)); 8.23–8.27 (*m*, 2 arom. H); 8.94 (br. *s*, NH). ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): 28.1, 28.9, 29.1, 29.7 (4*t*, C(2'), C(3'), CH₂(Succinyl)); 55.2 (*q*, MeO); 62.3 (*t*, C(6')); 67.6 (*d*, C(4')); 68.9 (*t*, CH₂(Allyl)); 79.3 (*d*, C(5)); 81.6 (*d*, C(1')); 85.9 (*s*, C–O–C(6')); 113.1 (*d*, arom. C); 115.8 (*d*, arom. C); 118.3 (*t*, CH₂(Allyl)); 119.0 (*s*, C(5)); 122.4, 125.2, 126.1, 126.8, 127.8, 127.9, 128.2, 128.9, 130.0, 130.1, 132.7 (11*d*, arom. C); 132.8, 133.7, 135.7, 135.9 (4*s*, arom. C); 139.1 (*d*, CH(Allyl)); 144.6, 145.4 (2*s*, arom. C); 150.2, 153.5, 155.3, 156.8, 158.5, 161.1, 164.8 (7*s*, arom. C, C(2), C(4), C(6)); 169.8, 170.7 (2*s*, CO). FAB-MS (positiv; 3-NOBA): 949 (12, *M*⁺), 307 (10), 304 (35), 303 (100), 297 (18), 296 (20), 226 (14), 225 (65), 155 (16), 154 (49), 139 (11), 138 (21), 137 (34), 136 (41), 135 (11), 107 (17), 105 (56), 98 (20), 91 (11), 90 (11), 89 (16), 77 (22), 69 (11), 57 (12), 56 (11), 55 (23).

9-{2',3'-dideoxy-6'-O-[bis(4'-methoxyphenyl)(phenyl)methyl]-4'-O-[4-O-(4-nitrophenyl)succinyl]-β-D-glucopyranosyl}hypoxanthin (**33a**). Schmp. 161°. DC (Kieselgel, Aceton/CH₂Cl₂ 1:1); R_f 0.46. $[\alpha]_D^{25} = +56.3$ (CHCl₃, *c* = 0.73). ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 1.74 (*m*, 1 H–C(3')); 2.17 (*m*, 1 H–C(2')); 2.32 (*m*, 1 H–C(2')); 2.42 (*m*, 1 H–C(3')); 2.41–2.49 (*m*, 1 H, CH₂(Succinyl)); 2.58–2.66 (*m*, 1 H, CH₂(Succinyl)); 2.75–2.79 (*m*, CH₂(Succinyl)); 3.18 (*dd*, *J* = 4.2, 10.6, 1 H–C(6')); 3.34 (*dd*, *J* = 1.8, 10.5, 1 H–C(6')); 3.75, 3.76 (*s*, 2 MeO); 3.84 (*dq*, *J* = 2.0, 9.7, H–C(5')); 5.14 (*dt*, *J* = 4.6, 10.6, H–C(4')); 5.83 (*dd*, *J* = 2.4, 10.8, H–C(1')); 6.78 (*m*, 4 arom. H); 7.18 (*m*, 1 arom. H); 7.22–7.31 (*m*, 8 arom. H); 7.42 (*dd*, *J* = 1.3, 8.4, 2 arom. H); 8.12 (*s*, H–C(2)); 8.20 (*s*, H–C(8)); 8.25 (*d*, *J* = 9.2, 2 arom. H). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): 30.7, 30.9, 31.2, 32.5, 32.7, 33.9 (6*t*, C(2'), C(3'), CH₂(Succinyl), Fremdsignale); 55.2 (*q*, MeO); 63.1 (*t*, C(6')); 67.5 (*d*, C(4(*m*))); 79.3 (*d*, C(5')); 81.9 (*d*, C(1')); 85.9 (*s*, C–O–C(6')); 113.1, 122.4 (2*d*, arom. C); 124.6 (*s*, C(5)); 125.3, 126.8, 127.8, 128.2, 130.0, 130.1 (6*d*, arom. C); 135.7, 135.9 (2*s*, arom. C); 137.6 (*d*, C(8)); 144.6 (*d*, C(2)); 145.1, 145.4 (2*s*, arom. C); 148.2 (*s*, C(4)); 155.2, 158.5 (2*s*, arom. C); 159.2 (*s*, C(6)); 169.8, 170.7 (2*s*, CO). FAB-MS (positiv; 3-NOBA): 790 (1, [M + H]⁺), 789 (1, *M*⁺), 391 (3), 303 (100), 137 (22).

6-Allyloxy-2-benzamido-9-{2',3'-dideoxy-6'-O-[bis(4'-methoxyphenyl)(phenyl)methyl]-4'-O-[4-O-(4-nitrophenyl)succinyl]-β-D-glucopyranosyl}-7-carbapurin (**34a**). ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): 1.50–2.80 (*m*, 8 H, H–C(2'), H–C(3'), CH₂(Succinyl)); 3.09 (*dd*, *J* = 4.5, 11.0, 1 H–C(6')); 3.30 (*dd*, *J* = 4.5, 11.0, 1 H–C(6')); 3.65–3.90 (*m*, H–C(5')); 3.73 (*s*, 2 MeO); 5.02 (*d*, *J* = 5.0, CH₂(Allyl)); 5.17 (*dt*, *J* = 4.8, 10.5, 1 H–C(4')); 5.31 (*dd*, *J* = 2.4, 10.5, 1 H, CH₂(Allyl)); 5.46 (*dd*, *J* = 2.4, 16.0, 1 H, CH₂(Allyl)); 6.00–6.26 (*m*, H–C(1'), CH(Allyl)); 6.60 (*d*, *J* = 4.7, H–C(7)); 6.70–6.80 (*m*, 4 arom. H); 7.10–7.60 (*m*, 15 H, H–C(8), arom. H); 7.80–7.96 (*m*, 2 arom. H); 8.18–8.30 (*m*, 2 arom. H); 8.42 (*s*, NH).

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Herstellung von nucleosid-derivatisiertem Controlled Pore Glass (CPG) (Fig. 10). Eine 0,025–0,075M Lsg. der 4-Nitrophenylester **28a–34a** in DMF oder DMF/Dioxan 2:1 wurde mit 'long-chain alkylamine-CPG' (3–7 g/mmol 4-Nitrophenylester) und 5–10 equiv. Et₃N (bei **31a**: (i-Pr)₂EtN statt Et₃N) versetzt und unter gelegentlichem Schwenken 18–64 h bei RT. stehen gelassen. Danach wurde über eine Glasfilternutsche filtriert und mit DMF, MeOH und Et₂O (je 3 × 50 ml) gewaschen. Das derivatisierte CPG wurde kurz i. HV. getrocknet und anschliessend zum Kappen nicht umgesetzter Amino-Gruppen in Pyridin (bei **31a**: 2,6-Lutidin anstelle von Pyridin) aufgeschlämmt und mit DMAP und Ac₂O versetzt. Man liess unter gelegentlichem Schütteln 10–60 min bei RT. stehen, filtrierte, wusch wiederum mit MeOH und Et₂O (je 3 × 50 ml) und trocknete kurz i. HV. Zur Bestimmung der Beladungsdichte wurde eine definierte Menge (4–10 mg) des derivatisierten CPG in einem definierten Volumen (10–50 ml) von 70% HClO₄ in MeOH, 0,1M TsOH-Lsg. in MeCN oder 2% Cl₂CHCOOH in CH₂Cl₂ suspendiert, und von der überstehenden Lsg. die Absorption bei 498 nm bestimmt. Anhand der Konzentration des Bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)-Kations ($\epsilon_{498\text{nm}} = 70000$) wurde die Beladungsdichte des Trägermaterials [μmol/g] errechnet.

8. Automatisierte Festphasensynthese an einem Pharmacia Gene Assembler DNA-Synthesizer. Mit Ausnahme der Phosphoramidit-Lsg. wurden ausschliesslich Reagenzien des Herstellers verwendet. Zum Kettenaufbau wurden die vom Hersteller empfohlenen Standardparameter für den DNA-Syntheszyklus verwendet mit Ausnahme der Kopplungszeit, welche von 1 auf 6 min erhöht wurde. Die Konzentration der Lsg. der Phosphoramidite **28–34** war generell $0,1 \pm 0,05\text{M}$ in abs. MeCN. Oligonucleotide wurden ausschliesslich im 'auto-Trityl-off mode' (automatische Abspaltung der letzten Tr-Gruppe nach beendeter Kettenverlängerung) hergestellt. Die Kopplungsausbeuten (bestimmt *via* Trityl-Test) lagen durchschnittlich bei 98–99%. Nach erfolgter Synthese wurde das Trägermaterial zur Lsg. des automatisch von der Festphase befreiten Oligonucleotids gegeben. Zur vollständigen Entfernung der Basen- und Phosphat-Schutzgruppe wurde das Volumen dieser Lsg. mit konz. NH₃ auf 3–4 ml ergänzt und das Gemisch während 16–20 h auf 55° erwärmt. Anschliessend wurde i. RV eingedampft und das so erhaltene Rohmaterial zur weiteren Reinigung der HPLC zugeführt.

9. HPLC der Oligonucleotide. Alle hergestellten Oligonucleotide wurden unter den in Tab. 9 beschriebenen Konditionen chromatographisch gereinigt bzw. auf ihre Einheitlichkeit geprüft. Die durch Umrahmung in Tab. 9 hervorgehobenen Bedingungen dienten jeweils zur präparativen Trennung des jeweiligen Oligonucleotids. Dabei sammelte man die Hauptfraktion im Zentrum des Hauptpeaks zu einem Ausmass von ca. 70–80% der Peakfläche. Nach solcher präparativer Trennung wurde die Oligonucleotid-Fraktion durch Kontrollinjektion im jeweils angegebenen Chromatographie-System auf Einheitlichkeit untersucht. Ausschliesslich Oligonucleotide, welche dabei eine Reinheit von $\geq 95\%$ zeigten, wurden für die Untersuchung ihrer Paarungseigenschaften verwendet.

10. Entsalzen von HPLC-gereinigten Oligonucleotiden. Nach vollendeter präp. HPLC oder zwischen zwei präp. Trennungen in 2 verschiedenen HPLC-Systemen wurden die Oligonucleotide wie folgt von den Puffer-Salzen der Elutionsmittel befreit: Fraktionen von ca. 10 O.D.²⁶⁰, gelöst in 1 ml H₂O wurden auf eine zuvor mit 10 ml MeOH oder MeCN gewaschene und mit 5 ml H₂O konditionierte SepPak-RP-18[®]-Kartusche (Waters) aufgetragen. Zuerst wurden mit 5 ml H₂O die Puffer-Salze und danach mit 5–7 ml H₂O/MeOH 1:1 oder H₂O/MeCN 1:1 das entsprechende Oligonucleotid eluiert. Es wurden Fraktionen von ca. 1,0 ml gesammelt, welche anschliessend einzeln im UV bei 260 nm auf deren Oligonucleotid-Gehalt überprüft wurden. Die nucleotidenthaltenden Fraktionen (normalerweise 6–10) wurden vereinigt, i. RV vom MeOH befreit und anschliessend lyophilisiert. Die Entsalzung grösserer Mengen an Oligonucleotid (10–50 μmol) erfolgte an RP-18 'flash'-Kieselgel (Säule 30 × 100 mm): Elution bei 0,9–1,1 bar mit H₂O (1,5–2faches Volumen der aufgetragenen Lsg.) und H₂O/MeOH 1:1 (ca. 5faches Volumen der aufgetragenen Lsg.) in Fraktionen von 3 ml unter UV-Kontrolle. Solcherart gereinigte und entsalzte Oligonucleotide sind stabil (HPLC-Kontrolle) und können als Lyophilisat oder in wässr. Lsg. bei –18° über Monate hinweg ohne Zersetzung gelagert werden.

Tab. 9. Übersicht über Chromatographie-Bedingungen zur Reinigung und Charakterisierung von Oligo-homo-deoxyribonucleotiden (vgl. Fig. 1)

Sequenz	HPLC-Reinigung ^{a)}		Umkehrphase-HPLC	
	DEAE-IA	Mono-Q-IA		
ddGlc(A ₃ H ₃)	20–50% D in 30 min, <i>t_R</i> 20,6		10–25% B in 30 min, <i>t_R</i> 20,1	
ddGlc(H ₃ A ₃)	20–50% D in 30 min, <i>t_R</i> 21,0		10–25% B in 30 min, <i>t_R</i> 18,9	
ddGlc(A ₃ H ₆)	35–85% D in 30 min, <i>t_R</i> 18,7		40–80% B in 30 min, <i>t_R</i> 17,6	
ddGlc(A ₆ H ₄)	45–90% D in 30 min, <i>t_R</i> 28,2		30–70% B in 30 min, <i>t_R</i> 27,2	
ddGlc(A ₅ H ₅)	35–85% D in 30 min, <i>t_R</i> 25,1		30–70% B in 30 min, <i>t_R</i> 25,0	
ddGlc(A ₄ H ₄)	30–70% D in 30 min, <i>t_R</i> 17,0		30–70% B in 30 min, <i>t_R</i> 23,8	
ddGlc(A ₄ A ₄ H ₄ H ₄)	20–50% D in 30 min, <i>t_R</i> 15,9		35–75% B in 30 min, <i>t_R</i> 23,9	
ddGlc(H ₆)	20–50% D in 30 min, <i>t_R</i> 16,9		5–20% B in 30 min, <i>t_R</i> 17,5	
ddGlc(D ₃ D ₃ A ₃ A ₃)		0–80% F in 30 min, <i>t_R</i> 16,0	0–40% B in 30 min, <i>t_R</i> 22,6	
ddGlc(D ₃ D ₃ H ₃ H ₃)	20–50% D in 30 min, <i>t_R</i> 17,9		35–75% B in 30 min, <i>t_R</i> 25,7	
ddGlc(D ₆)		0–60% F in 30 min, <i>t_R</i> 21,4	0–40% B in 30 min, <i>t_R</i> 22,0	
ddGlc(X ₃ X ₃ A ₃ A ₃)		0–80% F in 30 min, <i>t_R</i> 19,8	0–30% B in 30 min, <i>t_R</i> 23,0	
ddGlc(X ₃ X ₃ H ₃ H ₃)	30–60% D in 30 min, <i>t_R</i> 21,5		25–65% B in 30 min, <i>t_R</i> 21,1	
ddGlc(X ₃ D ₃)		0–80% F in 30 min, <i>t_R</i> 22,9	0–40% B in 30 min, <i>t_R</i> 18,7	
ddGlc(X ₃ D ₃)		0–80% F in 30 min, <i>t_R</i> 23,0	0–40% B in 30 min, <i>t_R</i> 18,6	
ddGlc(X ₆)		40–65% F in 30 min, <i>t_R</i> 19,4	0–30% B in 30 min, <i>t_R</i> 18,2	
ddGlc(A ₄ A ₄ A ₄ I ₄)		0–80% F in 30 min, <i>t_R</i> 16,0	0–40% B in 30 min, <i>t_R</i> 18,9	
ddGlc(I ₄ A ₄ A ₄ I ₄)	0–50% D in 15 min, 50–70% D von 15–30 min, <i>t_R</i> 25,2			
ddGlc(I ₄ H ₄ I ₄ H ₄)	20–50% D in 30 min, <i>t_R</i> 13,7		25–65% B in 30 min, <i>t_R</i> 24,3	
ddGlc(D ₃ D ₃ I ₃ D ₃ I ₃)		0–80% F in 30 min, <i>t_R</i> 20,8	0–40% B in 30 min, <i>t_R</i> 18,5	
ddGlc(X ₃ X ₃ I ₃ X ₃ I ₃)		0–80% F in 30 min, <i>t_R</i> 24,8	0–30% B in 30 min, <i>t_R</i> 20,6	
ddGlc(I ₆)		0–80% F in 30 min, <i>t_R</i> 24,0	0–40% B in 30 min, <i>t_R</i> 20,7	

Tab. 9 (Fortsetzung)

Sequenz	HPLC-Reinigung ^{a)}		Umkehrphase-HPLC	
	DEAE-IA	Mono-Q-IA		
ddGlc(G ₃ -H ₃)		0–80% F in 30 min, <i>t_R</i> 28,4	0–40% B in 30 min, <i>t_R</i> 21,3	
ddGlc(G ₄ -H ₄)		30–100% F in 30 min, <i>t_R</i> 22,7	0–30% B in 30 min, <i>t_R</i> 28,9	
ddGlc(G ₅ -H ₅)		30–90% F in 30 min, <i>t_R</i> 27,6	10–40% B in 30 min, <i>t_R</i> 23,7	
ddGlc(G ₆ -H ₄)		30–90% F in 30 min, <i>t_R</i> 23,0	10–40% B in 30 min, <i>t_R</i> 23,7	
ddGlc((G-H) ₃)		0–80% F in 30 min, <i>t_R</i> 28,4	0–30% B in 30 min, <i>t_R</i> 22,1	
ddGlc((G-H) ₆)		0–80% F in 30 min, <i>t_R</i> 29,2	20–80% B in 30 min, <i>t_R</i> 19,3	
ddGlc(D-D-G-D-G-G)		0–80% F in 30 min, <i>t_R</i> 22,6	0–40% B in 30 min, <i>t_R</i> 18,9	
ddGlc(X-X-G-X-G-G)		0–90% F in 30 min, <i>t_R</i> 24,5	0–20% B in 30 min, <i>t_R</i> 25,7	
ddGlc(G-G-X-G-X-X)		0–90% F in 30 min, <i>t_R</i> 24,5	0–20% B in 30 min, <i>t_R</i> 25,0	
ddGlc(X ₃ -G ₃)		0–80% F in 30 min, <i>t_R</i> 25,3	0–20% B in 30 min, <i>t_R</i> 25,5	
ddGlc((X-G) ₃)		0–80% F in 30 min, <i>t_R</i> 25,3	0–20% B in 30 min, <i>t_R</i> 26,2	
ddGlc(I-I-G-I-G-G)	30–80% D in 30 min, <i>t_R</i> 17,0	20–80% F in 30 min, <i>t_R</i> 24,0	0–30% B in 30 min, <i>t_R</i> 24,0	
ddGlc(G-G-I-G-I-I)	25–70% D in 30 min, <i>t_R</i> 25,0		0–30% B in 30 min, <i>t_R</i> 23,0	
ddGlc(I-I-G-G-I-I)			0–25% B in 30 min, <i>t_R</i> 24,0	
ddGlc(G-G-I-I-G-G)			0–25% B in 30 min, <i>t_R</i> 24,0	
ddGlc(I ₃ -G ₃)			0–40% B in 30 min, <i>t_R</i> 18,7	
ddGlc((I-G) ₃)	25–70% D in 30 min, <i>t_R</i> 25,0		0–40% B in 30 min, <i>t_R</i> 19,0	
ddGlc((G-I) ₃)	25–70% D in 30 min, <i>t_R</i> 25,0		0–30% B in 30 min, <i>t_R</i> 23,0	
ddGlc((I-G) ₂)	0–50% D in 30 min, <i>t_R</i> 18,0		0–20% B in 20 min, <i>t_R</i> 20,0	
ddGlc((G-I) ₂)	0–50% D in 30 min, <i>t_R</i> 18,0		0–25% B in 25 min, <i>t_R</i> 20,0	
ddGlc((I-G)			2–18% B in 30 min, <i>t_R</i> 21,0	
ddGlc(G-I)			2–18% B in 30 min, <i>t_R</i> 21,0	
ddGlc(^{bn} I ₃ -G ₃)			20–60% B in 30 min, <i>t_R</i> 18,4	
ddGlc((^{bn} I-G) ₃)			20–60% B in 30 min, <i>t_R</i> 13,5	

^{a)} Retentionszeiten *t_R* in min; HPLC-Elutionsmittel A–F, vgl. Allgemeines; die Bedingungen in den Kästchen wurden jeweils zur präparativen Reinigung verwendet.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] A. Eschenmoser, M. Dobler, *Helv. Chim. Acta* **1992**, *75*, 218–259.
- [2] M. Böhringer, H.-J. Roth, J. Hunziker, M. Göbel, R. Krishnan, A. Giger, B. Schweizer, J. Schreiber, C. Leumann, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1992**, *75*, 1416–1477.
- [3] J. Hunziker, H.-J. Roth, M. Böhringer, A. Giger, U. Diederichsen, M. Göbel, R. Krishnan, B. Jaun, C. Leumann, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1993**, *76*, 259–352.
- [4] G. Otting, M. Billeter, K. Wüthrich, H.-J. Roth, C. Leumann, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1993**, *76*, 2701–2756.
- [5] A. Eschenmoser, *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **1991**, *39*, 795–807.
- [6] A. Eschenmoser, *Nova Acta Leopold., Neue Folge* Nr. 281, **1992**, *67*, 201–233; engl. Fassung: A. Eschenmoser, E. Loewenthal, *Chem. Soc. Rev.* **1992**, *21*, 1–16.
- [7] a) A. Eschenmoser, *Pure Appl. Chem.* **1993**, *65*, 1179–1188; b) A. Eschenmoser, Proceedings of the R.A. Welch Foundation Conference on Chemical Research XXXVII: '40 Years of the DNA Double Helix', A. Welch Found., Houston, Texas, 1993, p. 201–235; c) A. Eschenmoser, 'Towards a Chemical Etiology of the Natural Nucleic Acids' Structure', in 'Chemical Synthesis: Gnosis to Prognosis', Eds. C. Chatgililoglu und V. Snieckus, NATO ASI Series E: Appl. Sciences Vol. 320, Kluwer Academic Publ., Dordrecht, 1996, S. 293–340.
- [8] A. Eschenmoser, *Origins Life Evol. Biosphere* **1994**, *24*, 389–423.
- [9] K. Groebke, 'Über Purin-Purin-Paarungen bei Hexopyranose-Nukleinsäuren', Diss. Nr. 10149, ETH Zürich, 1993.
- [10] J. Hunziker, 'Homo-DNS: Herstellung und Paarungseigenschaften von Guanin-haltigen Oligonukleotiden', Diss. Nr. 9814, ETH Zürich, 1992.
- [11] a) L. Peng, '1. Synthese und Eigenschaften von Oligo-2'-deoxy-1',2'-seco-D-ribonukleotiden. – 2. Purin-Purin-gepaarte Oligonukleotide der Homo-DNA-Reihe', Diss. Nr. 10035, ETH Zürich, 1993; b) L. Peng, H.-J. Roth, *Helv. Chim. Acta* **1997**, *80*, 1494–1512.
- [12] U. Diederichsen, 'A. Hypoxanthin-Basenpaarungen in Homo-DNA-Oligonucleotiden. – B. Zur Frage des Paarungsverhaltens von Glucopyranosyl-Oligonucleotiden', Diss. Nr. 10122, ETH Zürich, 1993.
- [13] M. Egholm, O. Buchardt, L. Christensen, C. Behrens, S. M. Freier, D. A. Driver, R. H. Berg, S. K. Kim, B. Norden, P. E. Nielsen, *Nature (London)* **1993**, *365*, 566–568.
- [14] D. Müller, S. Pitsch, A. Kittaka, E. Wagner, C. E. Wintner, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1990**, *73*, 1410–1468.
- [15] R. W. Fischer, A. Helg, K. Groebke, U. Diederichsen, A. Giger, R. Krishnamurthy, R. Hammer, C. Miculka, S. Pitsch, B. Jaun, B. Schweizer, C. Leumann, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta*, in Vorbereitung.
- [16] H. Vorbrüggen, B. Bennua, *Chem. Ber.* **1981**, *114*, 1279–1286.
- [17] L. F. Christensen, A. D. Broom, M. J. Robins, A. Bloch, *J. Med. Chem.* **1972**, *15*, 735–739.
- [18] C. Grundmann, in 'Houben-Weyl, Methoden der Organischen Chemie', Band X/3 (Stickstoffverbindungen I), 4. Aufl., G. Thieme Verlag, Stuttgart, 1965, S. 789.
- [19] Z. Kazimierzczuk, H. B. Cottam, G. R. Revankar, R. K. Robins, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 6379–6382.
- [20] M. R. Harnden, R. L. Jarvest, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1989**, 2207–2213.
- [21] G. H. Beaven, E. R. Holiday, E. A. Johnson, 'Optical Properties of Nucleic Acids and Their Components', in 'The Nucleic Acids, Chemistry and Biology', Eds. E. Chargaff und J. N. Davidson, Academic Press, New York, 1955, Vol. 1, S. 493.
- [22] W. Pfeleiderer, G. Nübel, *Liebigs Ann. Chem.* **1961**, *647*, 155–160.
- [23] K. B. Roy, H. T. Miles, *Nucleosides Nucleotides* **1983**, *2*, 231–242.
- [24] L. F. Cavalieri, J. J. Fox, A. Stone, N. Chang, *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 1119–1122.
- [25] A. Albert, *Biochem. J.* **1953**, *54*, 646–654.
- [26] H. D. Mathelier, F. B. Howard, H. T. Miles, *Biopolymers* **1979**, *18*, 709–722.
- [27] J. Davoll, B. A. Lowy, *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, *73*, 1650–1655.
- [28] J. Davoll, *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, *73*, 3174–3176.
- [29] Z. Kazimierzczuk, D. Shugar, *Acta Biochim. Pol.* **1974**, *21*, 455.
- [30] F. Allaire, M. Simard, A. L. Beauchamp, *Can. J. Chem.* **1985**, *63*, 2054–2058.
- [31] J.-W. Chern, H.-Y. Lee, M. Huang, F.-J. Shish, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 2151–2154.
- [32] A. J. Jones, D. M. Grant, M. W. Winkley, R. K. Robins, *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 4079–4087.
- [33] P. A. Levene, W. A. Jacobs, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1910**, *43*, 3150–3163.

- [34] J. M. Gulland, E. R. Holiday, *J. Chem. Soc.* **1936**, 765–769.
- [35] a) B. L. Gaffney, L. A. Marky, R. A. Jones, *Nucleic Acids Res.* **1982**, *10*, 4351–4361; b) B. L. Gaffney, L. A. Marky, R. A. Jones, *Tetrahedron* **1984**, *40*, 3–13; c) A. Chollet, A. Chollet-Damerius, E. H. Kawashima, *Chem. Scri.* **1986**, 26, 37.
- [36] B. S. Sproat, A. M. Iribarren, R. G. Garcia, B. Beijer, *Nucleic Acids Res.* **1991**, *19*, 733–738.
- [37] a) B. C. Froehler, M. D. Matteucci, *Nucleic Acids Res.* **1983**, *11*, 8031–8036; b) L. J. McBride, R. Kierzek, S. L. Beaucage, M. H. Caruthers, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 2040–2048.
- [38] F. Seela, R. Mertens, Z. Kazimierzczuk, *Helv. Chim. Acta* **1992**, *75*, 2298–2306.
- [39] Y. Hayakawa, S. Wakabayashi, H. Kato, R. Noyori, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 1691–1696.
- [40] R. Eritja, D. M. Horowitz, P. A. Walker, J. Paige Ziehler-Martin, M. S. Boosalis, M. F. Goodman, K. Itakura, B. E. Kaplan, *Nucleic Acids Res.* **1986**, *14*, 8135–8153.
- [41] J. A. Piccirilli, T. Krauch, S. E. Moroney, S. A. Benner, *Nature (London)* **1990** *343*, 33–37.
- [42] F. Himmelsbach, B. S. Schulz, T. Trichtinger, R. Charubala, W. Pfeleiderer, *Tetrahedron* **1984**, *40*, 59–72.
- [43] F. Seela, H. Steker, H. Driller, U. Bindig, *Liebigs Ann. Chem.* **1987**, 15–19; F. Seela, H.-P. Muth, U. Binding, *Synthesis* **1988**, 670–674.
- [44] F. Seela, K. Mersmann, *Helv. Chim. Acta* **1993**, *76*, 1435–1449.
- [45] A. Giger, 'Untersuchungen über Oligonucleotide mit 2-Deoxy-D-ribose, 2,3-Dideoxy-D-glucopyranose und D-Allopyranose als Zuckerbausteine', Diss. Nr. 9975, ETH Zürich, 1992.
- [46] J. Davoll, *J. Chem. Soc.* **1960**, 131–138.
- [47] W. Fraser, 'Synthesis and characterisation of 2',3'- β -D-dideoxyglucopyranosyl oligonucleotides containing isoguanine', Postdoctoral Research Report, ETH Zürich, 1991.
- [48] A. Holzner, Arbeitsbericht, Postdoktorat, ETH Zürich, 1993.
- [49] a) R. L. Letsinger, J. L. Finnan, G. A. Heavner, W. B. Lunsford, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 3278–3279; b) R. L. Letsinger, W. B. Lunsford, *ibid.* **1976**, *98*, 3655–3661.
- [50] a) M. D. Matteucci, M. H. Caruthers, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 3185–3191; b) S. L. Beaucage, M. H. Caruthers, *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 1859–1862; c) L. J. McBride, M. H. Caruthers, *ibid.* **1983**, *24*, 245–248; d) S. P. Adams, K. S. Kavka, E. J. Wykes, S. B. Holder, G. R. Galluppi, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 661–663; e) A. D. Barone, J.-Y. Tang, M. H. Caruthers, *Nucleic Acids Res.* **1984**, *12*, 4051–4061.
- [51] M. P. Reddy, J. B. Rampal, S. L. Beaucage, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 23–26.
- [52] a) N. D. Sinha, J. Biernat, H. Köster, *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 5843–5846; b) N. D. Sinha, J. Biernat, J. McManus, H. Köster, *Nucleic Acids Res.* **1984**, *12*, 4539–4557.
- [53] R. A. Jones, 'Preparation of Protected Deoxyribonucleosides', in 'Oligonucleotide Synthesis – a practical approach', Ed. M. J. Gait, IRL Press, Oxford, 1984, S. 23.
- [54] U. Pielew, W. Zürcher, M. Schär, H. E. Moser, *Nucleic Acids Res.* **1993**, *21*, 3191–3196.
- [55] M. P. Böhrringer, 'Synthese und strukturelle Charakterisierung von Adenin-Oligonucleotiden mit 2,3-Dideoxy-D- und L-Glucopyranosen als Zuckereinheiten', Diss. Nr. 9377, ETH Zürich, 1991.
- [56] K. B. Roy, J. Frazier, H. T. Miles, *Biopolymers* **1979**, *18*, 3077–3087.
- [57] S. Arnott, R. Chandrasekaran, A. W. Day, L. C. Puigjaner, L. Watts, *J. Mol. Biol.* **1981**, *149*, 489–505.
- [58] T. Gołaś, M. Fikus, Z. Kazimierzczuk, D. Shugar, *Eur. J. Biochem.* **1976**, *65*, 183–192.
- [59] F. B. Howard, J. Frazier, H. T. Miles, *J. Biol. Chem.* **1966**, *241*, 4293–4295.
- [60] Y. Kyogoku, R. C. Lord, A. Rich, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1967**, *57*, 250–257; H. R. Rackwitz, K. H. Scheit, *Eur. J. Biochem.* **1977**, *72*, 191–200; M. D. Kirnos, I. Y. Khudyakov, N. I. Alexandrushkina, B. F. Vanyushin, *Nature (London)* **1977**, *270*, 369–370; C. Cheong, I. Tinoco, Jr., A. Chollet, *Nucleic Acids Res.* **1988**, *16*, 5115–5122 und dort zit. Lit.
- [61] A. Rich, 'On the Problems of Evolution and Biochemical Information Transfer', in 'Horizons in Biochemistry', Eds. M. Kasha and B. Pullmann, Academic Press, New York, 1962, S. 103.
- [62] C. Switzer, S. E. Moroney, S. A. Benner, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 8322–8323; *Biochemistry* **1993**, *32*, 10489–10496.
- [63] J. Sepiół, Z. Kazimierzczuk, D. Shugar, *Z. Naturforsch., C* **1976**, *31*, 361–370.
- [64] R. S. Norton, R. P. Gregson, R. J. Quinn, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1980**, 339–341.
- [65] J. D. Watson, F. H. C. Crick, *Nature (London)* **1953**, *171*, 737–738.
- [66] K. Hoogsteen, *Acta Crystallogr.* **1963**, *16*, 907–916.
- [67] W. Saenger, 'Principles of Nucleic Acid Structure', Springer-Verlag, New York, 1984.
- [68] J. Donohue, K. N. Trueblood, *J. Mol. Biol.* **1960**, *2*, 363–371; J. Donohue, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1956**, *42*, 60–65.

- [69] D. Voet, A. Rich, 'The Crystal Structures of Purines, Pyrimidines and Their Intermolecular Complexes', in 'Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology', Eds. J. N. Davidson und W. E. Cohn, Academic Press, New York, 1970, Vol. 10, S. 183 (Review).
- [70] M. Egli, P. Lubini, S. Pitsch, M. Bolli, R. Micura, A. Eschenmoser, in Vorbereitung.
- [71] L. A. Marky, K. J. Breslauer, *Biopolymers* **1987**, *26*, 1601–1620.
- [72] C. R. Cantor, P. R. Schimmel, 'Biophysical Chemistry. Part III: The behavior of biological macromolecules', W. H. Freeman & Co., San Francisco, 1980, S. 1135–1139.
- [73] T. S. Rao, A. F. Lewis, R. H. Durland, G. R. Revankar, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 6709–6712.
- [74] H. Rembold, R. K. Robins, F. Seela, L. E. Orgel, *J. Mol. Evol.* **1994**, *38*, 211–214.
- [75] M. P. Wallis, I. D. Spiers, C. H. Schwalbe, W. Fraser, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 3759–3762.
- [76] G. v. Kiedrowski, B. Wlotzka, J. Helbing, M. Matzen, S. Jordan, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 456–459.
- [77] K. Zimmermann, Arbeitsbericht, Postdoktorat, ETH Zürich, 1991.
- [78] T. Li, K. C. Nicolaou, *Nature (London)* **1994**, *369*, 218–221.
- [79] K. J. Luebke, P. B. Dervan, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 7447–7448.
- [80] S. Pitsch, S. Wendeborn, B. Jaun, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1993**, *76*, 2161–2183.
- [81] S. Pitsch, R. Krishnamurthy, M. Bolli, S. Wendeborn, A. Holzner, M. Minton, C. Lesueur, I. Schlönvogt, B. Jaun, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1995**, *78*, 1621–1635.
- [82] R. Krishnamurthy, S. Pitsch, M. Minton, C. Miculka, N. Windhab, A. Eschenmoser, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 1619–1623; *ibid.*, *Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1537–1541.
- [83] F. Cramer, G. Schlingloff, *Tetrahedron Lett.* **1964**, 3201–3206; R. V. Ravindranathan, H. T. Miles, *Biochim. Biophys. Acta* **1965**, *94*, 603–606; A. Yamazaki, I. Kumashiro, T. Takenishi, M. Ikehara, *Chem. Pharm. Bull.* **1968**, *16*, 2172–2181; F. A. Fuhrman, G. J. Fuhrman, R. J. Nachman, H. S. Mosher, *Science* **1981**, *212*, 557–558; V. Nair, D. A. Young, *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 406–408.
- [84] F. Ebel, 'Die Tetraedertheorie', in 'Stereochemie', Ed. K. Freudenberg, F. Deuticke, Leipzig & Wien, 1933, S. 525–661, 535.
- [85] E. Cherbuliez, K. Bernhard, *Helv. Chim. Acta* **1932**, *15*, 464–471 und 978–980.
- [86] E. Fischer, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1897**, *30*, 2226–2254.
- [87] F. Seela, C. Wei, Z. Kazimierczuk, *Helv. Chim. Acta* **1995**, *78*, 1843–1854.
- [88] C. Roberts, R. Bandaru, C. Switzer, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 3601–3604.
- [89] Y. Tor, P. B. Dervan, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 4461–4467.
- [90] T. Horn, C.-A. Chang, M. L. Collins, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 2033–2036.
- [91] V. Prelog, *J. Chem. Soc.* **1950**, 420–428.
- [92] F. Seela, Y. Chen, A. Melenewski, H. Rosemeyer, C. Wei, *Acta Biochim. Pol.* **1996**, *43*, 45–52.
- [93] A. H.-J. Wang, C. Bauer, Y.-G. Gao, H. Robinson, C. Roberts, C. A. Switzer, private communication by Prof. Switzer.
- [94] J. T. Davis, S. Tirumala, J. R. Jenssen, E. Radler, D. Fabris, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 4167–4176; F. Seela, C. Wei, A. Melenewski, *Nucleic Acids Res.* **1996**, *24*, 4940–4945.
- [95] G. I. L. Jones, N. L. Owen, *J. Mol. Struct.* **1973**, *18*, 1–32 (Review).
- [96] E. Taskinen, P. Liukas, *Acta Chem. Scand., Ser. B* **1974**, *28*, 114–120.
- [97] H. Dodziuk, H. v. Voithenberg, N. L. Allinger, *Tetrahedron* **1982**, *38*, 2811–2819.
- [98] J. D. Mersh, J. K. M. Sanders, *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 4029–4032.
- [99] J. R. Larson, N. D. Epiotis, F. Bernardi, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 5713–5716.
- [100] V. G. Matassa, P. R. Jenkins, A. Kūmin, L. Damm, J. Schreiber, D. Felix, E. Zass, A. Eschenmoser, *Isr. J. Chem.* **1989**, *29*, 321–343.
- [101] R. Krishnamurthy, Arbeitsbericht, Postdoktorat, ETH Zürich, 1992–1994.
- [102] A. R. Katritzky, M. Karelson, P. A. Harris, *Heterocycles* **1991**, *32*, 329–369.
- [103] A. R. Katritzky, M. Karelson, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 1561–1566.
- [104] S. Furberg, *Acta Crystallogr.* **1950**, *3*, 325–333; W. Cochran, *ibid.* **1951**, *4*, 81–92; J. M. Broomhead, *ibid.* **1951**, *4*, 92–100; cf. S. C. Nyburg, 'X-Ray Analysis of Organic Structures', Academic Press, New York, 1961.
- [105] J. D. Watson, 'The Double Helix', Atheneum, New York, 1968.
- [106] C. Roberts, R. Bandaru, C. Switzer, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 4640–4649.
- [107] J. D. Roberts, M. C. Caserio, 'Basic Principles of Organic Chemistry', 2nd edn., W. A. Benjamin Inc., Menlo Park/CA, 1977, S. 77.
- [108] E. Heilbronner, H. Bock, 'Das HMO-Modell und seine Anwendung. Grundlagen und Handhabung', Verlag Chemie GmbH, Weinheim, 1968.

- [109] P. Gygax, T. K. Das Gupta, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1972**, *55*, 2205–2214.
- [110] a) A. Eschenmoser, 'Studies in Organic Syntheses', Vortrag am 16. Int. Symp. on the Chemistry of Natural Products (IUPAC), Kyoto (Japan), 2.6.1988; b) A. Eschenmoser, 'Why not Hexose-Nucleic Acids', Vortrag an der Eucem Konferenz über Stereochemie, Bürgenstock (Schweiz), 5.5.1989; c) C. Leumann, H.-J. Roth, M. Böhlinger, J. Hunziker, F. Giger, M. Göbel, R. Krishnan, A. Eschenmoser, 'Oligonukleotide mit 2',3'-Dideoxyglycopyranose-Bausteinen ('Homo-DNS'): Paarungseigenschaften', Kurzfassung der Vorträge, Herbstversammlung der Schweiz. Chem. Ges., Bern, 20.10.1989, S. 31; d) A. Eschenmoser, 'Kon-Tiki-Experimente zur Frage nach dem Ursprung von Biomolekülen', in 'Materie und Prozesse vom Elementaren zum Komplexen', Eds. W. Gerok *et al.*, Verh. Ges. Dtsch. Naturforsch. Ärzte, 116. Versammlung, Berlin 1990, Wissenschaftl. Verlagsges.mBH; Stuttgart, 1991, S. 135–172.
- [111] B. Hyrup, P. E. Nielsen *Biorg. Med. Chem.* **1996**, *4*, 5–23 (Review).
- [112] J. Hunziker, C. Leumann, 'Nucleic Acid Analogues: Synthesis and Properties', in 'Modern Synthetic Methods 1995', Eds. B. Ernst und C. Leumann Verlag Helv. Chim. Acta, Basel, 1995, S. 331–417.
- [113] C. R. Calladine, H. R. Drew, 'Understanding DNA – The Molecule and How It Works', Academic Press Ltd., London, 1992, S. 19–37.
- [114] H. R. Drew, M. J. McCall, C. R. Calladine, 'New Approaches to DNA in the Crystal and in Solution', in 'DNA-Topology and its Biological Effects', Eds. N. R. Cozzarelli und J. C. Wang, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1990, S. 1–56.
- [115] P. Lubini, 'Kristallstrukturanalysen von chemisch modifizierten Oligonukleotiden', Diss. Nr. 10950, ETH Zürich, 1995.
- [116] R. Micura, M. Bolli, N. Windhab, A. Eschenmoser, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 899–902; *ibid.*, *Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 870–873; M. Bolli, R. Micura, A. Eschenmoser, *Chem. Biol.* **1997**, *4*, 309–320; M. Bolli, R. Micura, S. Pitsch, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1997**, *80*, 1901–1951.
- [117] G. Quinkert, E. Egert, C. Griesinger, 'Aspekte der Organischen Chemie – Struktur', Verlag Helv. Chim. Acta, Basel, 1995.
- [118] I. Schlönvogt, S. Pitsch, C. Lesueur, A. Eschenmoser, B. Jaun, R. M. Wolf, *Helv. Chim. Acta* **1996**, *79*, 2316–2345.
- [119] M. Tarköy, M. Bolli, B. Schweizer, C. Leumann, *Helv. Chim. Acta* **1993**, *76*, 481–510.
- [120] M. Tarköy, M. Bolli, C. Leumann, *Helv. Chim. Acta* **1994**, *77*, 716–744.
- [121] M. Bolli, J. C. Litten, R. Schütz, C. Leumann, *Chem. Biol.* **1996**, *3*, 197–206.
- [122] K.-H. Altmann, R. Imwinkelried, R. Kesselring, G. Rihs, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 7625–7628.
- [123] R. Zou, M. D. Matteucci, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 941–944.
- [124] A. Van Aerschot, I. Verheggen, C. Hendrix, P. Herdewijn, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 1483–1485.
- [125] G. F. Joyce, A. W. Schwartz, S. L. Miller, L. E. Orgel, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1987**, *84*, 4398–4402.
- [126] K. C. Schneider, S. A. Benner, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 453–455.
- [127] Ö. Almarsson, T. C. Bruice, J. M. Kerr, R. N. Zuckermann, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1993**, *90*, 7518–7523; Ö. Almarsson, T. C. Bruice, *ibid.* **1993**, *90*, 9542–9546.
- [128] L. Betts, J. A. Josey, J. M. Veal, S. R. Jordan, *Science* **1995**, *270*, 1838–1841.
- [129] P. Lohse, B. Oberhauser, Barbara Oberhauser-Hofbauer, G. Baschang, A. Eschenmoser, *Croat. Chem. Acta* **1996**, *69*, 535–562.
- [130] U. Diederichsen, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 458–461; U. Diederichsen, H. W. Schmitt, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 475–478.
- [131] J. Hunziker, A. Holzner, E. G. Delgado, unveröffentlichte Arbeiten, ETH, 1994.
- [132] R. Kierzek, L. He, D. H. Turner, *Nucleic Acids Res.* **1992**, *20*, 1685–1690.
- [133] J. P. Dougherty, C. J. Rizzo, R. Breslow, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 6254–6255; H. Hashimoto, C. Switzer, *ibid.* **1992**, *114*, 6255–6256; T. P. Prakash, K.-E. Jung, C. Switzer, *Chem. Commun.* **1996**, 1793–1794, daselbst auch Übersicht über frühere Literatur.
- [134] F. H. C. Crick, *J. Mol. Biol.* **1968**, *38*, 367–379.
- [135] L. E. Orgel, *J. Mol. Biol.* **1968**, *38*, 381–393.
- [136] G. Zubay, *Chemtracts Biochem. Mol. Biol.* **1994**, *5*, 179–198.
- [137] M.-T. Chenon, R. J. Pugmire, D. M. Grant, R. P. Panzica, L. B. Townsend, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 4627–4636.

Received September 17, 1997